



CENTRO DE INVESTIGACIONES  
EN OPTICA, A.C.

**“EFECTOS DE LA CONFORMACIÓN ESTRUCTURAL DE UN SUBSTRATO EN  
LA EMISIÓN DE FLUORESCENCIA POLARIZADA: ANÁLISIS DE  
FACTIBILIDAD TÉCNICA PARA EL DESARROLLO DE UN SENSOR ÓPTICO  
CON APLICACIONES BIOMÉDICAS”**

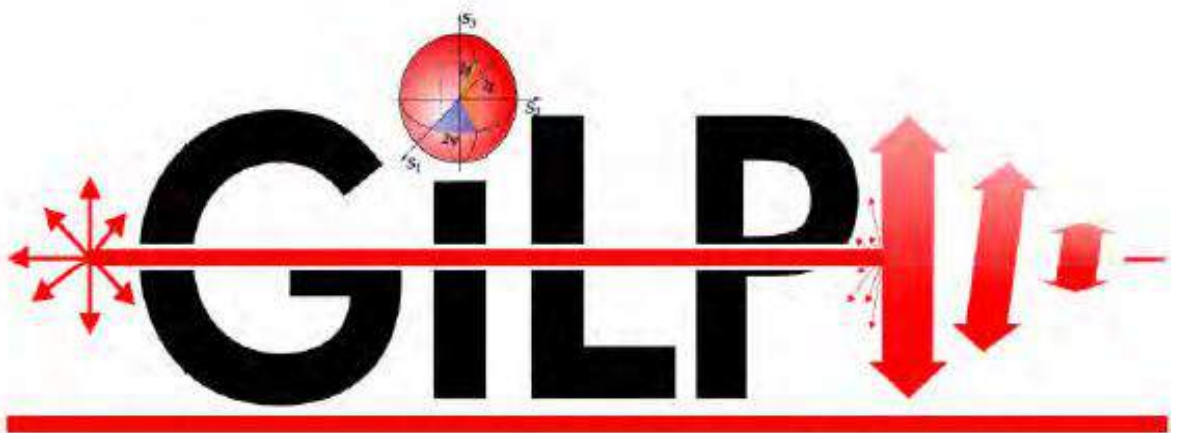


Tesis que para obtener el grado de Doctor en Ciencias (Óptica)  
*“Versión definitiva. Incluye cambios sugeridos por revisores”*

***Presenta: Danay Hernández López***

*Director de Tesis: Dr. Geminiano Martínez- Ponce*

*León · Guanajuato · México*  
*Diciembre de 2023*



**GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN  
LUZ POLARIZADA E IMAGENOLÓGÍA**

# Dedicatoria

*A mi familia.*

# Agradecimientos

A mi hijo Juan Pablo porque dio una sacudida a mi vida y me puso justo donde debía estar. A mi esposo, por ser mi soporte, por resistir a mi estrés y ansiedad durante estos años de estudio, gracias por todas las experiencias vividas. A toda mi familia, en particular a mis padres, Julia y Pablo, por su apoyo incondicional. Agradezco especialmente a mi asesor, Dr. Geminiano D. Martínez Ponce, por todas sus enseñanzas, su paciencia y apoyo en este recorrido académico. Agradezco al comité doctoral conformado por los Dres. Cristina Solano, Juan Manuel López Téllez y Eden Morales Narváez por sus consejos para el desarrollo de este trabajo. A los Dres. Leticia Larios López y Haggeo Desirena Enríquez por su tiempo y comentarios oportunos para el fortalecimiento de este trabajo. Al Centro de Investigaciones en Óptica (CIO), al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), y a mis amigos de generación por todo el apoyo brindado en el doctorado.

*Llegue a todos mi más sincero agradecimiento.*

# Resumen

La celulosa, localizada en las paredes celulares de las plantas, es uno de los polímeros más prevalentes en la naturaleza y puede ser obtenida mediante diversos métodos, incluida la síntesis de cierto tipo de bacterias. Este polímero da origen a un material específico denominado nanocelulosa, clasificado según su estructura en nanocristales (CNC, por sus siglas en inglés, Cellulose Nano-Crystals), nanofibras (CNF, por sus siglas en inglés, Cellulose Nano-Fibers) y celulosa bacteriana (BC, por sus siglas en inglés, Bacterial Cellulose). En el ámbito biomédico, los nanocristales de celulosa han tenido un impacto significativo debido a su biocompatibilidad y sostenibilidad, destacándose en aplicaciones como la fabricación de apósitos para el tratamiento y monitoreo de la cicatrización de heridas, un proceso que generalmente se evalúa objetivamente por especialistas. En el cuidado de lechos infectados o de lenta curación, varios biomarcadores son fundamentales, siendo el potencial de hidrógeno(pH) uno de los parámetros cruciales para gestionar adecuadamente los fluidos en el cuerpo humano y las heridas. La reciente atención se ha dirigido hacia el desarrollo de sensores ópticos basados en nanocelulosa para monitorear eficientemente estos procesos biológicos. En este estudio,

se presenta la fabricación de películas basadas en CNC mediante dos técnicas específicas: autoensamblaje inducido por evaporación (EISA) y por inmersión. Dado que estas películas se utilizan en la producción de sensores, se aborda la caracterización polarimétrica para optimizar la respuesta óptica del material y comprender los procesos de conformación estructural del substrato de nanocelulosa cristalina. Posteriormente, se dispersó un fluoróforo sensible al pH en las matrices sólidas fabricadas, evaluando la viabilidad de emplear este material como sensor de pH en la cicatrización de heridas. Este trabajo reveló la coexistencia de estructuras nemáticas y quirales en películas secas fabricadas por EISA, lo cual podría impactar el desarrollo óptimo de un sensor óptico. Por otro lado, las películas con alineación forzada mostraron una mayor homogeneidad polarimétrica y, por ende, una mejor respuesta a la fluorescencia inducida con luz polarizada linealmente. Estos resultados subrayan la importancia de la técnica de fabricación en las propiedades finales del material, especialmente en el contexto de aplicaciones biomédicas como sensores de pH.

# Abstract

Cellulose, located in the cell walls of plants, is one of the most prevalent polymers in nature and can be obtained through various methods, including the synthesis by certain types of bacteria. This polymer gives rise to a specific material known as nanocellulose, classified based on its structure into nanocrystals (CNC, Cellulose Nano-Crystals), nanofibers (CNF, Cellulose Nano-Fibers), and bacterial cellulose (BC, Bacterial Cellulose). In the biomedical field, nanocrystals of cellulose have had a significant impact due to their sustainability and biocompatibility, particularly in applications such as the production of dressings for the treatment and monitoring of wound healing—a process typically assessed objectively by specialists. In the care of infected or slow-healing beds, several biomarkers are crucial, with hydrogen potential (pH) being one of the crucial parameters for managing fluids in the human body and wounds effectively. Recent attention has been directed towards the development of optical sensors based on nanocellulose to efficiently monitor these biological processes. In this study, the manufacturing of films based on CNC using two specific techniques, namely evaporative-induced self-assembly (EISA) and immersion, is presented. As these films are

utilized in sensor production, polarimetric characterization is addressed to optimize the optical response of the material and understand the structural conformation processes of the crystalline nanocellulose substrate. Subsequently, a pH-sensitive fluorophore was dispersed onto the fabricated solid matrices, assessing the feasibility of employing this material as a pH sensor in wound healing. This work revealed the coexistence of nematic and chiral structures in dry films manufactured by EISA, which could impact the optimal development of an optical sensor. On the other hand, films with forced alignment exhibited greater polarimetric homogeneity and, consequently, a better response to fluorescence induced with linearly polarized light. These findings underscore the importance of the manufacturing technique in the final properties of the material, especially in the context of biomedical applications such as pH sensors.



# Índice general

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento del problema . . . . .	5
1.2. Hipótesis . . . . .	6
1.3. Objetivos . . . . .	7
1.3.1. Objetivo General . . . . .	7
1.3.2. Objetivos específicos . . . . .	7
1.4. Justificación . . . . .	8
1.5. Contenido de la tesis . . . . .	9
<b>2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b>	<b>10</b>
2.1. Nanocelulosa . . . . .	10

---

2.1.1. Tipos de nanocelulosa . . . . .	12
2.2. Estructuras de cristales líquidos . . . . .	14
2.2.1. Estructuras nemática y esméctica . . . . .	16
2.2.2. Estructura colestérica o nemática quiral . . . . .	16
2.3. Técnicas para alinear CNCs . . . . .	18
2.3.1. Autoensamblaje inducido por evaporación (EISA) . . . . .	18
2.3.2. Alineación por aplicación de campo magnético . . . . .	21
2.3.3. Alineación por aplicación de campo eléctrico . . . . .	23
2.3.4. Alineación por inmersión . . . . .	27
2.3.5. Alineación por cizallamiento . . . . .	28
2.4. Polarimetría . . . . .	31
2.4.1. Estados de polarización . . . . .	34
2.5. Polarimetría de Stokes . . . . .	35
2.6. Polarimetría de Mueller . . . . .	37
2.6.1. Matrices de Mueller de elementos ópticos . . . . .	38
2.7. Polarímetros de Mueller . . . . .	41

2.7.1. Polarímetro con doble retardador rotatorio . . . . .	42
2.8. Fluorescencia inducida con luz polarizada . . . . .	49
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>51</b>
3.1. Técnicas de fabricación de películas . . . . .	51
3.1.1. EISA . . . . .	52
3.1.2. Técnica de inmersión . . . . .	53
3.2. Arreglo polarimétrico nulo . . . . .	56
3.3. Espectrometría UV-Vis . . . . .	58
3.4. Difracción de Rayos X . . . . .	60
3.5. Imágenes SEM de películas de CNC autoalineadas . . . . .	61
3.6. Polarímetro de imagen de matriz de Mueller . . . . .	61
3.7. Fluorescencia inducida con luz polarizada . . . . .	63
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	<b>65</b>
4.1. Naturaleza “nano” de los cristales de celulosa . . . . .	65
4.2. Espectroscopia UV-Vis . . . . .	66
4.2.1. Espectroscopia UV-Vis con luz no polarizada . . . . .	66

4.2.2. Espectroscopia UV-Vis con luz polarizada circular . . . . .	67
4.3. Análisis cualitativo de la birrefringencia lineal . . . . .	69
4.4. Difracción de rayos X . . . . .	71
4.5. Imágenes SEM . . . . .	73
4.6. Polarimetría de imagen de Matriz de Mueller . . . . .	75
4.6.1. Descomposición Lu-Chipman . . . . .	77
4.6.2. Análisis cuantitativo de las anisotropías . . . . .	81
4.7. Efecto iridiscente en películas EISA . . . . .	85
4.8. Análisis polarimétrico de películas con alineación forzada . . . . .	86
4.9. Fluorescencia inducida por luz linealmente polarizada . . . . .	89
<b>5. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO</b>	<b>94</b>
5.1. Conclusiones . . . . .	94
5.2. Trabajo Futuro . . . . .	96
<b>A.</b>	<b>98</b>
A.1. Producciones científicas . . . . .	98
A.2. Polarimetría microscópica de imagen de Mueller . . . . .	101

**Referencias Bibliográficas**

**121**

# Índice de tablas

3.1. Código de muestras fabricadas por la técnica EISA. . . . .	54
4.1. Parámetro de orden Hermans para diferentes películas EISA. Tomado de [1]	72
4.2. Tabla resumen de anisotropías en películas fabricadas por inmersión, diatenuación circular (DC) y lineal (DL); y despolarización lineal (DespL) y circular (DespC). . . . .	89
4.3. Tabla resumen de anisotropías en películas fabricadas por inmersión, retardancia lineal (RL) y circular (RC). . . . .	89
4.4. Intensidades relativas de fluorescencia para películas fabricadas por inmersión (DC) y por autoensamble (EISA). LNP: luz no polarizada, LPH: luz polarizada horizontalmente, LPV: luz polarizada verticalmente . . . . .	93

# Índice de figuras

2.1. Estructura molecular de la celulosa como unidades lineales de glucosa (n es el número de moléculas). . . . .	11
2.2. Esquemas gráficos que demuestran: a) el aislamiento de la nanocelulosa (CNCs y CNFs) a partir de paredes celulares de madera y plantas y b) el procedimiento para la síntesis de celulosa bacteriana (BC). Imágenes TEM de CNCs (c), CNFs (d), imagen SEM de BC (e). Aplicaciones emergentes de materiales derivados de la nanocelulosa en f) fotónica quiral, g) actuadores blandos, h) almacenamiento de energía, e i) sistemas biomédicos. Tomado de [2] . . . . .	15
2.3. Arreglo de moléculas en forma de varilla en las mesofases de CL nemática, esméctica y nemática quiral de izquierda a derecha. El paso ( <b>p</b> ) corresponde a la distancia que separa dos pseudoplanos cuando el director ( <b>n</b> ) ha completado una rotación de $360^\circ$ . . . . .	17

2.4. Estructura nemática quiral mostrada por una película sólida con huella dactilar o textura Schlieren. La barra de escala corresponde a 200 $\mu m$ . Tomado de [3]	19
2.5. Efecto de la energía de sonicación en la formación de una estructura nemática quiral que se colorea estructuralmente por autoensamblaje. La barra de escala corresponde a 100 $\mu m$ . Tomado de [4]	20
2.6. Espectro de reflectancia con luz circularmente polarizada con lateralidad izquierda para películas con diferente energía de sonicación. Tomado de [4]	21
2.7. (a) Tomografía AFM de una nanopelícula sin presencia de campo magnético (izquierda) y en presencia de campo magnético de 7T (derecha) en matriz de PVA(Tomado de [5]), (b) Imagen con polarizadores cruzados de una muestra bajo campo magnético vertical de 28T (Tomado de [6])	22
2.8. (a) Microscopia electrónica de rastreo SEM-EDX de las muestras con CNC no orientados (izquierda), paralelos (centro) y cruzados (derecha), las líneas amarillas y moradas descubren los nanocompuestos de hierro; (b) Diagramas esquemáticos de la alineación paralela (superior) y la cruzada (inferior) de las películas de CNC magnéticas dopadas y las imágenes ópticas correspondientes durante la laminación. Los CNC magnéticos en disposición paralela se marcan con flechas negras y las ortogonales con flechas azules. Tomado de [7]	24



2.9. Micrografía óptica con luz polarizada de nanocristales de ortiga blanca con (a) ausencia de campo eléctrico y (b) en presencia de un campo eléctrico a una frecuencia de 1 kHz e intensidad de $1200 \text{ Vcm}^{-1}$ . Tomado de [8] . . . . .	25
2.10. Micrografía TEM de una película seca en presencia de un campo eléctrico a una frecuencia de 250 kHz e intensidad de $10 \text{ Vcm}^{-1}$ . Tomado de [9] . . . . .	25
2.11. Imagen AFM de una película seca en presencia de un campo eléctrico. La flecha indica la dirección de campo eléctrico. Tomado de [10] . . . . .	26
2.12. (a) Birrefringencia efectiva de películas con velocidades de inmersión de 10 cm mín y 20 cm mín , (b) Luz transmitida por película de 10 cm/min entre polarizadores lineales cruzados ( $\pm 45^\circ$ ) y (c) Imagen AFM de película a 10 cm/min. Tomado de [11] . . . . .	28
2.13. Representación esquemática de la teoría de dominios mesoscópicos de cristales bajo fuerzas cizallantes. Tomado de [12]. . . . .	29
2.14. Dispersiones de CNC a diferentes concentraciones sometidas a diferentes velocidades de cizallamiento (dirección de flujo hacia arriba), observadas mediante microscopía óptica en modo de polarización lineal cruzada (a-o). La barra de escala corresponde a $100 \mu\text{m}$ . Tomado de [13, 14] . . . . .	30
2.15. (a) Diagrama esquemático del método de preparación, (b) Iridiscencia de la película bajo luz circularmente polarizada con lateralidad izquierda y su complementario, la barra de escala corresponde a 1 cm. Tomado de [15] . . . . .	31

2.16. Propagación del vector de campo eléctrico en los estados de polarización (a) lineal, (b) circular y (c) elíptica. . . . .	35
2.17. Diagrama general de un polarímetro de Mueller. . . . .	42
2.18. Cubo de datos de las 50 imágenes obtenidas por la rotación de 360° del retardador de cuarto de onda PSG. . . . .	44
2.19. Orientación del fluoróforo GFP con respecto a la molécula septina . . . . .	50
3.1. Proceso de fabricación de hojas de CNC por el método EISA. . . . .	53
3.2. Arreglo experimental para la fabricación de películas por la técnica de inmersión. M1 y M2 son motores a pasos, M3 montura deslizante, M4 portamuestra, M5 es el portaobjetos donde se deposita la solución sin teñir(M7) y teñida (M6). . . . .	55
3.3. Arreglo polarimétrico con estados de polarización lineales paralelos (a) y ortogonales (b), con una computadora personal (PC) y un polarizador lineal (PL) con eje principal a $\pm 45^\circ$ . . . . .	57
3.4. Esquema para capturar el efecto iridiscente en las películas. $P_i$ y $C_i$ son polarizadores lineales y placas retardadoras de cuarto de onda, respectivamente. M es la muestra. . . . .	57

3.5. Diagrama esquemático para obtener luz polarizada con lateralidad derecha, L:láser a 633 nm, PL: polarizador lineal, R: placa retardadora de cuarto de longitud de onda y PS: polarímetro de Stokes. . . . .	59
3.6. Esquema de la difracción de rayos X . . . . .	60
3.7. Diagrama esquemático del polarímetro de imagen de matriz de Mueller, donde $P_i$ y $C_i$ son polarizadores lineales y placas retardadoras de cuarto de onda, respectivamente. <b>S</b> es la muestra, <b>O</b> un objetivo de microscopio de 60×, <b>L<sub>1</sub></b> es una lente condensadora, <b>L<sub>2</sub></b> es una lente ocular, y <b>PC</b> es un ordenador personal. 62	62
3.8. Diagrama esquemático para obtener los espectros de fluorescencia de las muestras alineadas, donde F es la fuente multilongitudes de onda centrada a 480 nm, PL es un polarizador lineal, <b>M</b> es la muestra teñida y <b>D</b> es el detector formado por una fibra óptica acoplada a un espectrómetro Ocean Optics. . .	64
4.1. Imagen TEM de nanocristales de celulosa (Tomado bajo permiso de Nanografi Nano Technology, SKU: NG01NC0101, <a href="https://nanografi.com/popular-products/cellulose-nanocrystal-nanocrystalline-cellulose-cnc">https://nanografi.com/popular-products/cellulose-nanocrystal-nanocrystalline-cellulose-cnc</a> . . . . .	66
4.2. Espectros de transmisión con luz no polarizada de películas fabricadas por la técnica EISA con diferentes valores de pH y concentración de cristales. Tomado de [1] . . . . .	67

4.3. Espectros de transmisión con luz circularmente polarizada con lateralidad derecha de películas fabricadas por la técnica EISA, fabricadas con diferentes valores de pH y concentración de cristales. Tomado de [1] . . . . .	68
4.4. Imágenes de las películas a diferente concentración con el mismo valor de pH, orientadas horizontalmente entre una pantalla con polarización lineal a 45° y un polarizador cruzado a -45° (imágenes superiores) y paralelos (imágenes inferiores): (a) 3C4, (b) 4C4, (c) 4C4, (d) 3C4, (e) 4C4, (f) 5C4. Tomado de [1]	70
4.5. Difractograma de películas variando la concentración de CNC y el pH del solvente. Tomado de [1] . . . . .	72
4.6. Sección transversal de las películas de nanocristales de celulosa a diferentes valores de concentración y pH. . . . .	74
4.7. Matriz de Mueller completa para la muestra 5C9 a 465 nm . . . . .	76
4.8. Matriz de Mueller completa para la muestra 5C9 a 635 nm . . . . .	76
4.9. Matriz de Mueller reducida para la muestra 5C9 a 465 nm . . . . .	78
4.10. Matriz derivada de la descomposición polar a la matriz de Mueller para la muestra 5C9 a 465 nm . . . . .	79
4.11. Birrefringencia de la muestra 5C9 a 465 nm. . . . .	80
4.12. Eje rápido por píxel de la birrefringencia lineal en película 5C9 . . . . .	81

4.13. Propiedades de birrefringencia circular media de las láminas CNC evaluadas a 465 nm (4.13a), y 635 nm (4.13b) . . . . .	82
4.14. Birrefringencia lineal de las películas de CNC evaluadas a 465 nm (4.14a), y 635 nm (4.14b) . . . . .	84
4.15. Efecto iridiscente de la película 3C7 a diferentes ángulos de incidencia entre estados de polarización circulares ortogonales: (a) incidencia normal, (b) 22,5°, (c) 30°, (d) 45°, y (e) 60° . . . . .	86
4.16. Matriz derivada de la descomposición polar a la matriz de Mueller para la muestra por inmersión a velocidad de 4.13 mm/s y 1 capa. . . . .	87
4.17. Matriz derivada de la descomposición polar a la matriz de Mueller para la muestra por inmersión a velocidad de 330 μm/s y 1 capa. . . . .	88
4.18. Matriz derivada de la descomposición polar a la matriz de Mueller para la muestra por inmersión a velocidad de 330 μm/s y 2 capas. . . . .	88
4.19. Espectros de absorbancia (a) y fluorescencia (b) de la sal de fluoresceína sódica en solución líquida y la curva de correlación entre la sal con la variación de pH (c). . . . .	91
4.20. Espectro de fluorescencia de la sal de fluoresceína sódica dispersa en una matriz sólida de nanocristales de celulosa. . . . .	92
A.1. Descomposición polar para la muestra 3C3 . . . . .	101

## Índice de figuras

---

A.2. Descomposición polar para la muestra 3C7 . . . . .	102
A.3. Descomposición polar para la muestra 3C9 . . . . .	102
A.4. Descomposición polar para la muestra 4C3 . . . . .	103
A.5. Descomposición polar para la muestra 4C7 . . . . .	103
A.6. Descomposición polar para la muestra 4C9 . . . . .	104
A.7. Descomposición polar para la muestra 5C3 . . . . .	104
A.8. Descomposición polar para la muestra 5C7 . . . . .	105
A.9. Descomposición polar para la muestra 5C9 . . . . .	105

# Capítulo 1

## INTRODUCCIÓN

Existe una demanda creciente de materiales con mayor sustentabilidad que puedan reemplazar a los polímeros sintéticos actualmente empleados en aplicaciones tecnológicas, biomédicas y comerciales. Con esta intención, se trabaja arduamente por parte de grupos de investigación a nivel mundial para desarrollar procesos y materias primas más económicos y respetuosos con el medio ambiente para satisfacer estas necesidades. En los últimos años, los materiales basados en celulosa, como los compuestos de nanocelulosa, han demostrado un gran potencial para asumir este papel debido a la naturaleza de este material, tales como la sostenibilidad, biodegradabilidad y excelentes propiedades mecánicas. La celulosa es uno de los polímeros más abundantes en el planeta y se encuentra principalmente en la estructura de las plantas o puede ser generada a partir de algunas especies de bacterias (celulosa bacteriana). La nanocelulosa se obtiene a partir de diferentes procesos químicos y físicos como la hidrólisis ácida o por trituración mecánica bajo altas presiones, con la intención de obtener soluciones

## 1. INTRODUCCIÓN

---

acuosas homogéneas de este material. Derivado de estos métodos de extracción se obtienen diferentes tipos de fibras cristalinas que pueden clasificarse según su morfología en celulosa microcristalina (MCC) [16], nanocristales de celulosa (CNC) o como también se les conoce *nanowhiskers*, nanofibras (CNF) y redes de nanofibras conocidas comúnmente como nanocelulosa bacteriana (BNC) [17]. Esta última se obtiene partiendo de la fermentación de ciertas especies de bacterias, formando estructuras similares a cintas. Estas morfologías brindan propiedades químicas y físicas únicas a las películas sólidas hechas por varios métodos de fabricación. Estos materiales son ampliamente utilizados en aplicaciones ópticas, en la industria petrolera, en materiales antifalsificación, como aditivo para reforzar materias primas, para mejorar las propiedades eléctricas de celdas solares, en sensores biomédicos, etc. En los últimos años, se ha consolidado un área de investigación hacia el desarrollo de dispositivos de papel basados en cristales de celulosa para aplicaciones ópticas y biológicas. Existen diversas técnicas para fabricar hojas de papel nanoestructurado, incluyendo el método de inmersión (dip coating), el de cizallamiento (shear coating) y el de autoensamblaje inducido por evaporación (EISA). Específicamente, los papeles de nanocristales de celulosa (CNC) producidos mediante el último método presentan notables nanoestructuras quirales, destacando la naturaleza líquido-cristalina de la unidad polimérica [18, 19]. Esta propiedad óptica se manifiesta en relación con la concentración de cristales utilizada en la preparación de la solución matriz para la película seca. Soluciones con concentraciones más altas de CNC generan películas más gruesas, pero al mismo tiempo mejoran la organización estructural y el reconocido efecto iridiscente [20]. Existen varios factores que pueden influir en la separación de las fases isotrópicas y anisótropas de las soluciones de CNC y en la formación de estas estructuras



## 1. INTRODUCCIÓN

---

quirales, pudiéndose mencionar el tiempo de secado, la geometría cristalina, la fuerza iónica, la humedad relativa, la temperatura, el potencial hidrógeno (pH), que específicamente afectan el paso nemático quiral [21, 22, 23, 24]. Es bien conocido que la separación de las fases isotrópicas y anisótropas de soluciones de CNC están limitadas por factores como las características del material (algodón, residuos agroindustriales, etc.) del cual se extraen los cristales, nivel crítico de concentración y pH. Li y col. [25] realizaron pruebas de separación de fases a diferentes concentraciones y pH en gotas de solución de CNC; encontrando que la fase isotrópica aparecía en soluciones con concentración de CNC superior a 5wt % a pH de 1.5 a 11, y la fase nemática se alcanza a pH por debajo de 1.5 y por encima de 11.

Las películas hechas de nanocelulosa, también conocidas como nanopapel de celulosa, han surgido como sustratos atractivos para soportar muchos dispositivos de detección óptica [1]. Particularmente, en los últimos años, se ha despertado un especial interés en emplear derivados de la celulosa en el área de ingeniería tisular y puntos de cuidado, tal como el desarrollo de apósitos inteligentes para el cuidado y monitoreo de la cicatrización de heridas crónicas [26]. Existen varios biomarcadores que pueden afectar el proceso de cicatrización de una herida considerada como crónica, es el caso de las citocinas proinflamatorias como interleucina IL-1, interleucina IL-6 y el factor de necrosis tumoral TNF- $\alpha$ , los factores de crecimiento (TGF) y las proteasas [27, 28]. La detección de muchos de estos marcadores requiere, frecuentemente, de técnicas moleculares cuya implementación es compleja. Estos biomarcadores ayudan en gran medida a identificar y estratificar a los pacientes que no cicatrizan para quienes los enfoques guiados por biomarcadores pueden ser clínicamente importantes en su tratamiento.

## 1. INTRODUCCIÓN

---

Otro elemento que influye en la curación de heridas es el potencial hidrógeno [29]. Ha sido reportado que una piel sana tiene un intervalo de pH entre 5.5 y 6.5, mientras que una herida mal cicatrizada o en estado crónico tiende a aumentar su valor a condiciones básicas (superior a 7.4) debido a los procesos infecciosos que se puedan estar desarrollando en el lecho de la herida [30].

Dado el creciente auge del uso de películas basadas en CNC en aplicaciones biomédicas, se hace necesario conocer de forma más detallada el desempeño y las propiedades ópticas intrínsecas que este material brinda bajo diferentes condiciones de pH. Existen diversas técnicas ópticas para la evaluación cualitativa y cuantitativa de la anisotropía de ciertos materiales, como la microscopía de polarización, el sistema polarimétrico nulo basado en polarizadores lineales cruzados y fuente de luz blanca y la espectroscopia polarimétrica de matriz de Mueller [31, 32, 33]. Esta última técnica necesita pasar por un proceso posterior para desacoplar las medidas polarimétricas como la diatenuación, despolarización y retardo; que puede resultar en una descomposición polar [34] o diferencial [35]. Un procedimiento común para monitorear el pH es medir directamente sobre la muestra mediante electrodos, sin embargo, en procesos biológicos, lo ideal es obtener la información de la variable *in situ* sin interacción física directa. En este sentido, se ha reportado que las sondas fluorescentes sensibles a pH son completamente viables, debido las propiedades de transducción que ofrecen [36]. La radiación electromagnética clasificada como “fluorescencia” es un tipo de fotoluminiscencia, la cual caracteriza a ciertas sustancias (molécula o estructura supramolecular) que son capaces de absorber energía electromagnética y emitirla, al decaer los electrones

## 1. INTRODUCCIÓN

---

excitados, con una longitud de onda mayor (energía menor). El tiempo de decaimiento más corto hace la diferencia con la fosforescencia. Si la vibración del campo eléctrico asociado al haz de luz de excitación está confinada en un plano durante su propagación en el espacio y el tiempo, el estado de polarización se clasifica como lineal. En función de las condiciones en las cuales el fluoróforo de referencia está inmerso, la fluorescencia conservará un cierto grado de la polarización lineal original. El valor de este grado de polarización depende de la libertad de rotación y del incremento que en sus dimensiones el fluoróforo experimente a través del tiempo. Por lo anterior, las tasas de rotación y de emisión de fluorescencia determinan la respuesta anisótropa [37]. En particular, este trabajo se centra en el estudio microestructural de películas de nanocelulosa bajo variaciones del potencial de hidrógeno en el solvente y concentración de CNCs(soluto) con el objetivo de obtener la película (hoja) con las mejores condiciones ópticas y mecánicas para la aplicación propuesta. Posteriormente, una vez que el fluoróforo fue dispersado en la matriz de CNC, la respuesta del sistema de sensado a excitación con luz linealmente polarizada fue evaluada.

### 1.1. Planteamiento del problema

El pH tiene una relevancia marcada en los procesos biológicos, ya que sus valores en cada fluido están bien descritos, y su regulación es primordial para un adecuado funcionamiento de los órganos. El mecanismo de regulación del pH en biología se le conoce como homeostasis del pH, y valores anómalos de este parámetro pueden ser tanto el signo como la causa del

## 1. INTRODUCCIÓN

---

desencadenamiento de enfermedades. La técnica más común para sensar el pH es a través de instrumentos químicos, donde los electrodos son los encargados de medir los niveles de la variable, irrumpiendo en el lecho y convirtiendo las pruebas en invasivas. El proceso de cicatrización de una herida en estado crónico puede ser monitoreado partir de un apósito que, a la vez que proporcione información sobre el estadio de la lesión, favorezca a un mejor desempeño del proceso de cicatrización. Dependiendo del método de fabricación de la película de CNC, su birrefringencia lineal puede resultar más fortalecida. Dado el grado de alineación de la matriz de CNC que se emplea para dispersar el fluoróforo sensible al pH, la intensidad de fluorescencia, inducida por luz linealmente polarizada, puede resultar más eficiente y con ello lograr una plataforma de sensado con una sensibilidad adecuada.

### 1.2. Hipótesis

La intensidad de fluorescencia en películas nanoestructuradas a base de nanocristales de celulosa con fluoróforos sensibles a pH en el intervalo entre 4-9, puede ser mejorada si se excita con luz polarizada y consecuentemente puede ser empleada como plataforma de sensado para el monitoreo del proceso de cicatrización de heridas.

### 1.3. Objetivos

#### 1.3.1. Objetivo General

Desarrollar una metodología para caracterizar la organización estructural de una plataforma de sensado novedosa, basada en nanocristales de celulosa e identificar su correlación con anisotropías ópticas medidas mediante polarimetría de Mueller; además, evaluar el efecto de tal conformación sobre la fluorescencia emitida cuando en la plataforma se han dispersado fluoróforos sensibles a potencial hidrógeno (pH), parámetro de interés en el seguimiento de la cicatrización de una herida.

#### 1.3.2. Objetivos específicos

- Realizar una búsqueda de trabajos previos para establecer el estado del arte e identificar las oportunidades para contribuir al campo de conocimiento en donde esta investigación incide. Principalmente, identificar la factibilidad de uso de marcadores biológicos, diferentes a PCR, en el proceso de cicatrización de una herida.
- Realizar investigación sobre los métodos para la alineación de nanocristales de celulosa y su posible efecto sobre las propiedades ópticas en las películas secas.
- Evaluar el efecto de dispersar fluoróforos en una matriz de CNCs alineados sobre la fluorescencia emitida con excitación linealmente polarizada.

## 1. INTRODUCCIÓN

---

- Caracterizar las propiedades de anisotropía óptica de las películas y establecer una adecuada correlación con las características de la fluorescencia emitida por fluoróforos específicos dispersos en una muestra.

### 1.4. Justificación

Este trabajo surge de la necesidad de desarrollar dispositivos que proporcionen información de forma pronta y con un método no invasivo en la evaluación médica de lesiones, disminuyendo las inconveniencias del afectado. Este tipo de sensores ópticos pueden impactar económicamente en el tiempo de hospitalización de un paciente con cicatrización en estado crónico, en lo social, en la prevención de amputaciones y, desde el punto de vista científico, favorecer el entendimiento de los factores que afectan la cicatrización de una herida. Una herida que no se desarrolla de forma adecuada y alcanza niveles crónicos de estadio, pueden provocar malestar físico debido a la irritación, picor, calor y hasta dolor presente en la zona, y con ello muy probable que el paciente se encause en problemas psicológicos. El pH, entre otros marcadores, es muy importante en el proceso curación de heridas, un nivel adecuado de este parámetro tiende a favorecer un adecuado desenvolvimiento de las diferentes fases involucradas en este proceso. Una técnica empleada para el tratamiento de heridas crónicas es el uso de apósitos, que de forma natural ayuden en el proceso de regeneración en el lecho.[38] Últimamente, la nanocelulosa se ha destacado en el ambiente médico/clínico por ser un material con características de biocompatibilidad y que esencialmente ayuda a promocio-

## 1. INTRODUCCIÓN

---

nar la regeneración de tejido epitelial. Este trabajo describe la fabricación y caracterización polarimétrica de películas de nanocristales de celulosa bajo diferentes condiciones de pH del soluto y concentraciones de CNC. El análisis polarimétrico se lleva a cabo con dos longitudes de ondas particulares a 465 nm y 635 nm. Seguido a este estudio, se fabricaron películas donde el soluto contiene un fluoróforo sensible a pH para evaluar la emisión de fluorescencia que desarrollan estos substratos cuando son excitados con luz linealmente polarizada. Sobre la base de estos resultados se pretende evaluar la factibilidad de emplear estas películas como sensor óptico para aplicaciones biomédicas.

### 1.5. Contenido de la tesis

El presente trabajo se presentará de la siguiente manera: En el Capítulo 2 se presentará una revisión bibliográfica dirigida a los métodos de fabricación de hojas nanoestructuradas, un breve estudio sobre las técnicas de microscopia de polarización y de fluorescencia. La presentación del arreglo experimental para la evaluación de la anisotropía y fluorescencia de las películas se encuentra en el Capítulo 3. Más adelante, el Capítulo 4 presenta la discusión de resultados y, por último, se mostrarán las conclusiones y los trabajos a futuro en el Capítulo 5.

# Capítulo 2

## FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 2.1. Nanocelulosa

La celulosa es uno de los polímeros más abundantes de la naturaleza, producida por las plantas, microorganismos y sistemas que carecen de células [39]. Históricamente, este polímero se ha usado en la industria para la producción de papel, material textil y derivados que se emplean para la obtención de aditivos de pinturas. Esencialmente, la celulosa se extrae de la madera o de desechos industriales que son sometidos a procesos mecánicos y/o químicos para la obtención de la pulpa de celulosa, que posteriormente pasa a otros procesos productivos.

La celulosa es la agrupación de varias unidades de glucosa en una estructura lineal, donde sus cadenas se unen por mediación de los puentes de hidrógeno. La nanocelulosa superficialmente posee un gran número de grupos hidroxilos, lo que la convierte en un material altamente



## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

hidrofílico y fácil de modificar. La Figura 2.1 muestra la estructura molecular de la celulosa.

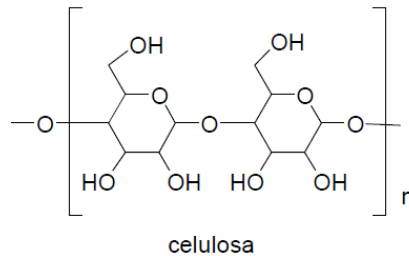


Figura 2.1: Estructura molecular de la celulosa como unidades lineales de glucosa (n es el número de moléculas).

En los últimos años, la celulosa, específicamente la nanocelulosa, se ha convertido en un polímero ampliamente demandado para aplicaciones de disímiles áreas tanto industriales, fotónicas, como biomédicas. Este producto ha demostrado ser un material sustentable, renovable, biodegradable y fuertemente biocompatible [40]. Aunado a esto, posee propiedades mecánicas que le permite fortalecer otras matrices de polímeros, además de su forma anisótropa e interesantes características ópticas. En este sentido, se han reportado investigaciones alentadoras sobre la funcionalidad de la nanocelulosa en el ámbito de la atención médica clínica, como es el caso de apósitos para heridas y portadores de fármacos. Otros posibles usos de la celulosa son los aerogeles para andamiajes tisulares, recubrimientos (productos de envasado) y agentes de refuerzo en matrices poliméricas, cerámicas y metálicas [41]. Una de las razones principales que ha atraído el interés por los materiales con estructuras “nano” es la posibilidad de conseguir materiales altamente homogéneos y mecánicamente mejorados, debido a la reducción del tamaño en las fibras [42].

### 2.1.1. Tipos de nanocelulosa

La nanocelulosa tiene esencialmente regiones amorfas y cristalinas, las cuales son químicamente modificadas para la obtención de los diferentes tipos de fibras nanoestructuradas que se derivan de este material. Un método bien descrito en la bibliografía para la extracción de nanocelulosa es a partir de la hidrólisis ácida, donde en función de la concentración del ácido que se emplea, las regiones cristalinas se mantienen intactas porque son resistentes al tratamiento ácido, y las zonas amorfas se hidrolizan completamente. Esencialmente, se emplean para este proceso productos como el ácido clorhídrico ( $HCl$ ) o el sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). El proceso de hidrólisis con este último favorece la dispersión de los CNC en agua debido a la producción de ésteres sulfato superficiales cargados por la reacción del ácido con los grupos hidroxilo superficiales de la celulosa [43].

Ha sido demostrado que dependiendo del origen y del proceso de obtención de la celulosa, la celda que conforma la cadena polimérica puede presentar dos fases cristalinas diferentes, la monoclinica y la triclinica [44]. Las dimensiones de la celda unitaria en la fase triclinica son:  $a = 0.674$  nm,  $b = 0.593$  nm,  $c = 1.036$  nm,  $\alpha = 117^\circ$ ,  $\beta = 113^\circ$ , y  $\gamma = 81^\circ$ . Para la fase monoclinica las dimensiones son  $a = 0.801$  nm,  $b = 0.817$  nm,  $c = 1.036$  nm,  $\gamma$  (ángulo monoclinico) =  $97.30^\circ$ .

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

### **Nanofibras de celulosa (CNFs)**

Las nanofibras de celulosa se pueden obtener a partir de varios procesos: mecánicos (homogeneización, trituración y molienda), tratamiento químico o mediante la combinación de ambos [45]. Durante su fabricación, se necesita separar contaminantes como la lignina, la hemicelulosa o la pectina, que están presentes en el material celulósico original. A diferencia de los CNC, las CNF mantienen regiones amorfas junto a las cristalinas, por lo que su pureza no es tan alta. Aunado a esto, las nanofibras tienen diámetros ligeramente en el mismo intervalo que los CNC y longitudes de hasta algunas unidades de micrómetros, por lo que pueden conformar fuertes redes de fibras.

### **Celulosa bacteriana (BCs)**

La celulosa bacteriana (BC), como su nombre lo indica, es comúnmente producida a partir de bacterias como la *Aceto-bacter*(*Acetobacterxylinum*), *Rhizobium*, *Agrobacterium* y *Sarcina*, mediante un proceso de fermentación [46, 47]. Este polímero presenta la misma estructura química de la celulosa de origen vegetal, pero difiere en su conformación y propiedades fisicoquímicas, lo que lo hace atractivo para diversas aplicaciones, especialmente en las áreas de alimentos, procesos de separación, catálisis y en medicina, gracias a su biocompatibilidad. Esta estructura produce un sistema único de nanofibras de 20 – 100 nm de longitud.

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

### Nanocristales de celulosa (CNCs)

Los CNCs se obtienen fundamentalmente a través de un proceso químico de hidrólisis ácida. Debido a las altas concentraciones del ácido sulfúrico que se emplea para este fin, se alcanzan a destruir las regiones amorfas de las fibras y solo se conservan las regiones cristalinas del material celulósico [48, 49, 50]. Su conformación en forma de varilla rígida puede tener un diámetro comprendido entre 2 – 50 nm y una longitud de 100 – 500 nm, con una pureza que puede ser superior al 90 %. Debido a la técnica empleada para obtener estos nanovarillas, sus superficies mantienen grupos sulfatos que se consideran impurezas del material, los mismos que más adelante se debatirá como influyen en la formación de estructuras cuando interactúan con medios con potencial hidrógeno variable.

### 2.2. Estructuras de cristales líquidos

La morfología de los cristales individuales de la nanocelulosa (en forma de varillas finas y alargadas) tienen cierta tendencia a retorcerse sobre su eje [51], lo que evidencia una posible estructura nemática quiral. Para un mejor entendimiento de las posibles estructuras que adquieren los cristales de celulosa se debe estudiar el comportamiento de los cristales líquidos.

Los cristales líquidos son una fase específica del estado de agregación de la materia junto a las fases gaseosa, líquida y sólida, compartiendo algunas características de estas últimas. Las propiedades mecánicas y simétricas de este estado de la materia se encuentran en

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

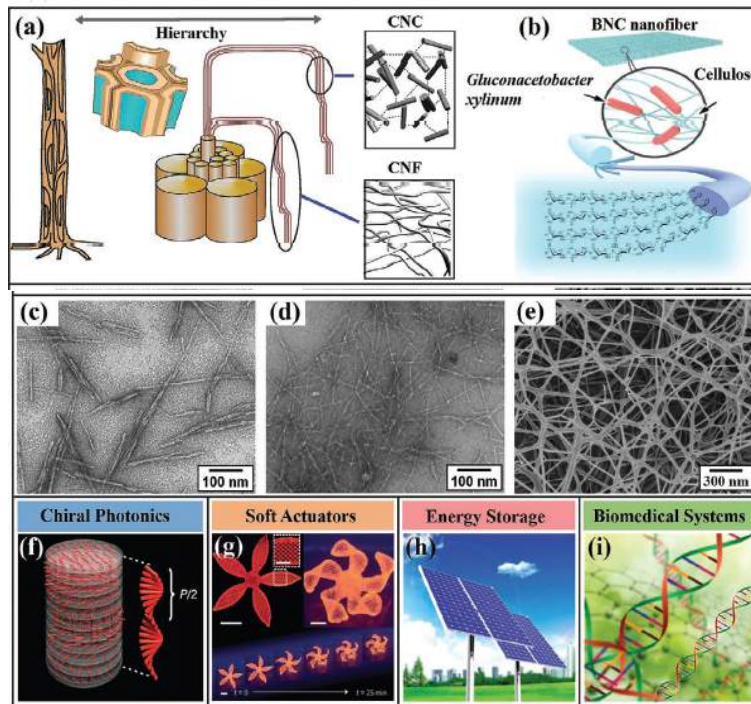


Figura 2.2: Esquemas gráficos que demuestran: a) el aislamiento de la nanocelulosa (CNCs y CNFs) a partir de paredes celulares de madera y plantas y b) el procedimiento para la síntesis de celulosa bacteriana (BC). Imágenes TEM de CNCs (c), CNFs (d), imagen SEM de BC (e). Aplicaciones emergentes de materiales derivados de la nanocelulosa en f) fotónica quiral, g) actuadores blandos, h) almacenamiento de energía, e i) sistemas biomédicos. Tomado de [2]

el intermedio entre las de un líquido y las de un cristal, y es a esto que deben su nombre de *cristales líquidos* (CL) [52]. Los tipos de cristales dependen en gran medida de la naturaleza o estructura de la molécula o grupo de moléculas y de como se orienta su eje molecular dadas determinadas condiciones intrínsecas o fenómenos externos como la temperatura, estrés o solventes. De modo general, las mesofases de CL puede agruparse en tres grupos: fase

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

nemática, esmécticas o colestéricas, en todos los casos se produce cierto grado de anisotropía que bien puede evaluarse mediante microscopía de luz polarizada u otras técnicas. Existen ciertos polímeros rígidos que al disolverlos en un solvente adecuado pueden experimentar transiciones de fases mencionadas anteriormente dado su comportamiento como una varilla rígida, como puede señalarse en este caso a los nanovarillas de celulosa.

### 2.2.1. Estructuras nemática y esméctica

En la fase nemática las moléculas tienden a presentar cierto orden y su dirección de orientación descrito a partir de su vector unitario o director  $\mathbf{n}$ , suele ser de forma paralela entre ellos, por lo que se pueden considerar como medios uniaxiales con el eje óptico a lo largo de  $\mathbf{n}$ . Otra propiedad que identifica a esta fase es que no forman capas y su centro de simetría no está altamente ordenado como se muestra en la Figura 2.3 [52]. Por otro lado, la fase esméctica fue reportada por primera vez por G. Friedel en la revista francesa *Annales des Physiques* en el año 1922, donde la reconoce como una estructura en capas con un espacio entre capas bien definido.

### 2.2.2. Estructura colestérica o nemática quiral

En los cristales líquidos que experimentan una formación de estructura colestérica, la orientación de las moléculas no es constante en el espacio y el director  $\mathbf{n}$  sufre un movimiento helicoidal de 360 grados a lo largo de lo que se puede llamar el eje  $z$ . A diferencia de la fase

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

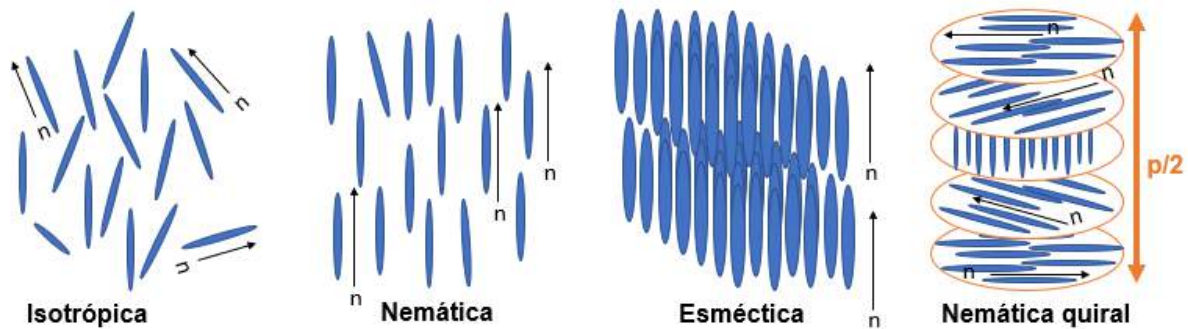


Figura 2.3: Arreglo de moléculas en forma de varilla en las mesofases de CL nemática, esméctica y nemática quiral de izquierda a derecha. El paso ( $\mathbf{p}$ ) corresponde a la distancia que separa dos pseudoplanos cuando el director ( $\mathbf{n}$ ) ha completado una rotación de  $360^\circ$ .

esméctica, en esta fase, las moléculas de las capas subsecuentes presentan torsión en forma de espiral con respecto a las moléculas de la capa normal. Como puede observarse en la Figura 2.3, la estructura es periódica y su periodo espacial estará dado por la mitad del paso (*pitch* en inglés). Si  $\mathbf{p}/2$  resulta comparable con alguna longitud de onda comprendida en el espectro visible, la nanoestructura permite la reflexión de Bragg. Esta propiedad consiste en la reflexión selectiva de luz polarizada circular izquierda en el intervalo de longitudes de onda visibles. Es común referirse a  $\mathbf{p}$  como el tono quiral, aunque la fase nemática quiral se repite cada mitad de ciclo y los directores  $\mathbf{n}$  son equivalentes en la capa normal y en la que sus moléculas rotan a 180 grados [53, 54, 55].

### 2.3. Técnicas para alinear CNCs

En esta sección son mencionadas algunas técnicas que se emplean para lograr la alineación o la formación de estructuras en películas basadas en celulosa nanocristalina. Los métodos más frecuentemente empleados suelen ser la autoorganización inducida por evaporación, revestimiento por cizallamiento o por inmersión, además del ordenamiento inducido por la aplicación de campos externos, tanto eléctricos como magnéticos. Estos procedimientos permiten la formación de estructuras altamente organizadas a escalas nanométricas, micrométricas y macrométricas.

#### 2.3.1. Autoensamblaje inducido por evaporación (EISA)

Debido al método de hidrólisis aplicado para obtener los cristales de nanocelulosa, se crean grupos sulfatos con carga negativa en sus superficies, las cuales se repelen entre sí, dando lugar a dispersiones estables y a orientaciones específicas localmente [56, 57, 58]. El proceso de autoensamblaje permite que un sistema sin orden previo, y con componentes preexistentes, experimente la formación de estructuras o cierto patrón organizado como consecuencia de la interacción local de sus componentes, sin la intervención de factores externos [59]. Este proceso puede ocurrir a diferentes escalas como la nanométrica, mesoscópica y micrométrica en una gran variedad de materiales orgánicos, inorgánicos e incluso metales. Bajo condiciones críticas de concentración de CNC, usando esta técnica de autoensamblaje, se forma una estructura líquido-cristalina nemática quiral, la cual se identifica por un patrón particular



## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

similar a una huella dactilar, el cual puede observarse con un arreglo polarimétrico nulo a escala microscópica, ver la Figura 2.4.

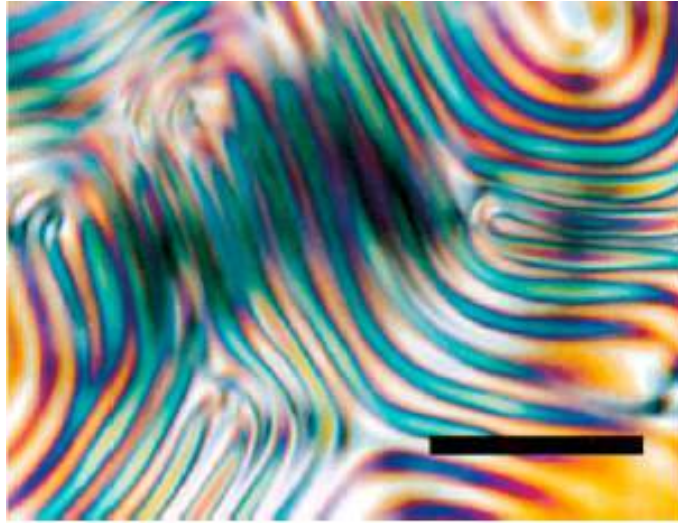


Figura 2.4: Estructura nemática quiral mostrada por una película sólida con huella dactilar o textura Schlieren. La barra de escala corresponde a  $200 \mu m$ . Tomado de [3]

En este punto existen otros factores que influyen en la interacción superficial de los cristales para la formación de estructuras, una de ellas puede ser la fuente de la cual se extraen las nanovarillas (plantas de algodón, biomasa leñosa, desechos industriales), o bien el proceso de sonicación al que se somete el material para la preparación de las suspensiones. Si se observa la Figura 2.5 al aplicar diferentes niveles de sonicación, en este caso entre 0 a  $3087 \text{ J/mL}$ , el periodo quiral de las estructuras formadas varía en función de esta energía desde aproximadamente los  $250 \text{ nm}$  hasta  $1 \mu m$ . Lo anterior, se puede traducir a una iridiscencia en el espectro visible cuando se observan las películas secas entre polarizadores cruzados. Se ha demostrado que a una mayor energía de sonicación existe una menor interacción quiral entre los CNC individuales, lo que se traduce a un corrimiento hacia la parte roja del espectro o *red*

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

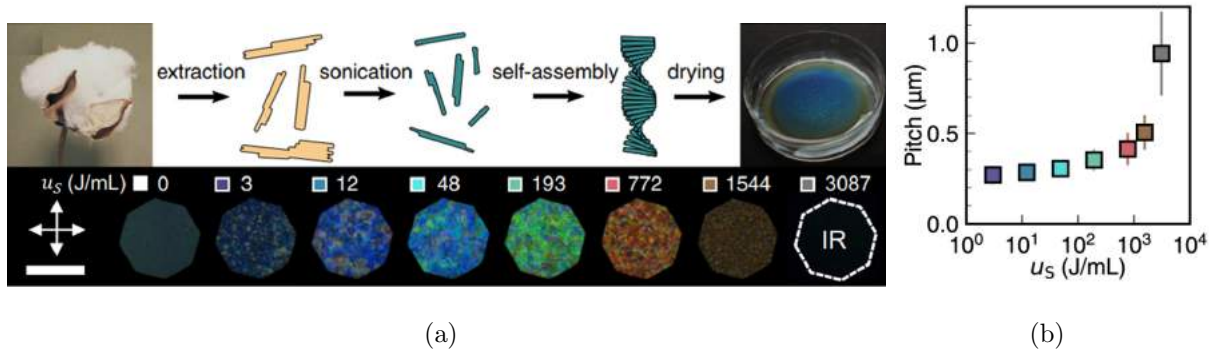


Figura 2.5: Efecto de la energía de sonicación en la formación de una estructura nemática quiral que se colorea estructuralmente por autoensamblaje. La barra de escala corresponde a  $100 \mu m$ . Tomado de [4]

*shift* [4]. Para películas fotónicas con color estructural visible, los valores de paso (*pitch*) de SEM transversal suelen ser consistentes con las longitudes de onda máximas de la espectroscopia óptica, visto en picos máximos de reflectancia/transmitancia para luz circularmente polarizada con lateralidad izquierda/derecha respectivamente a esa longitud de onda, como puede observarse en la Figura 2.6.

Las interacciones electrostáticas en suspensiones de nanocristales en forma de varilla a altas concentraciones, se pueden configurar o modificar para dar orientaciones locales específicas [60], por lo que se abordará la formación de estas estructuras a partir de otros métodos de alineación como la aplicación de campo eléctrico, magnético o ejercer fuerzas externas como la inmersión o cizallamiento.

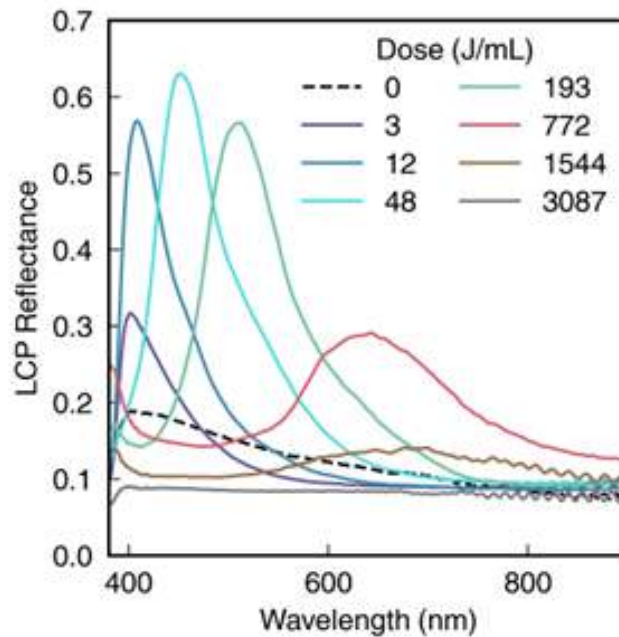


Figura 2.6: Espectro de reflectancia con luz circularmente polarizada con lateralidad izquierda para películas con diferente energía de sonicación. Tomado de [4]

### 2.3.2. Alineación por aplicación de campo magnético

Dentro de las aplicaciones más marcadas de los CNC se encuentra el reforzamiento de matrices de otros polímeros para mejorar sus propiedades ópticas y/o mecánicas. Una parte importante de análisis en este punto son los solventes acuosos y no acuosos mezclados con este tipo de material, que posee propiedades anisótropas sintonizables mediante la aplicación de campo magnético. Esto último es posible gracias a las propiedades electromagnéticas que poseen los cristales de celulosa, esencialmente se comportan como un material altamente susceptible diamagnéticamente y aunado a esto tienen una alta relación de aspecto, lo que favorece la modificación de la estructura nemática quiral tanto de las suspensiones como en

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

las películas secas finales mediante un campo magnético. Esta capacidad de manipulación de los CNC en disolventes no acuosos es muy útil para incorporarlos en una amplia gama de polímeros como el alcohol polivinílico (PVA) o polímeros termoplásticos [61]. Debido a que el comportamiento de los cristales dispersos en diferentes tipos de matrices puede llegar a ser diferente, la intensidad de campo magnético puede variar según el solvente empleado en la solución anisótropa.

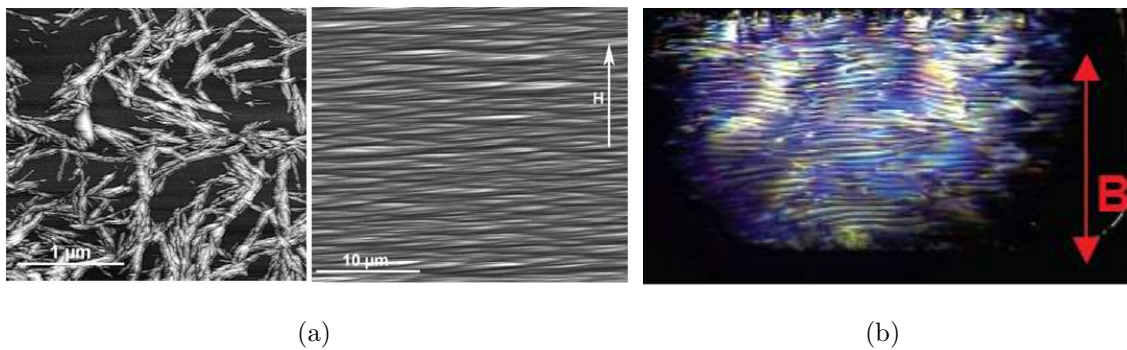


Figura 2.7: (a) Tomografía AFM de una nanopelícula sin presencia de campo magnético (izquierda) y en presencia de campo magnético de 7T (derecha) en matriz de PVA (Tomado de [5]), (b) Imagen con polarizadores cruzados de una muestra bajo campo magnético vertical de 28T (Tomado de [6])

Ha sido demostrado que tanto en matrices externas como los cristales puros, los nanocristales de celulosa se alinean perpendicularmente al campo magnético. Para esto, las películas fabricadas bajo este método experimentan un módulo de Young mucho mayor en la dirección perpendicular que en la paralela al campo magnético. Como consecuencia, las propiedades mecánicas de los nanopapeles resultan mucho mejores debido a las microestructuras orientadas preferenciales [62, 63, 5, 64, 65]. Se han fabricado nanocompuestos no tóxicos, biocom-

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

patibles y biodegradables basados en una matriz de ácido poliláctico con nanopartículas de óxido de hierro absorbidos por nanocristales de celulosa; los cuales son altamente reforzados mediante alineación estructural por campo magnético. Una de las aplicaciones fundamentales para estos compuestos es como andamios biomédicos artificiales como pueden ser los huesos flexibles o las articulaciones de rodillas, en aplicaciones de diagnóstico médico y en la ingeniería de tejidos [7]. Al fabricar andamiajes por capas con estructura de forma individual y ortogonal entre sí, asegura el control con precisión de la orientación de los bloques anisótropos de orden nanométrico y de este modo el material resulta completamente reforzado en direcciones específicas o en múltiples direcciones como se muestra en la Figura 2.8.

### **2.3.3. Alineación por aplicación de campo eléctrico**

Así como se ha demostrado la eficacia de emplear el campo magnético para alinear las varillas de nanocelulosa, la aplicación de campo eléctrico también ha sido estudiada para este fin. En 2006, Bordel y colaboradores reportaron la respuesta anisótropa de los CNC ante la presencia de un campo eléctrico con condiciones específicas de frecuencia e intensidad [8].

Estos autores dispersaron celulosa en disolventes apolares y sometieron a campo eléctrico las películas durante el proceso de secado. En esta investigación se comprobó que el eje más largo, tanto de las fibras como los nanocristales, se orientan de forma paralela al campo eléctrico aplicado, a diferencia de la respuesta ante campo magnético. La orientación axial puede deberse a una anisotropía dieléctrica positiva y/o a la birrefringencia que surge de la forma alargada de las partículas, como se muestra en las Figuras 2.9 y 2.10 [8]. En la

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

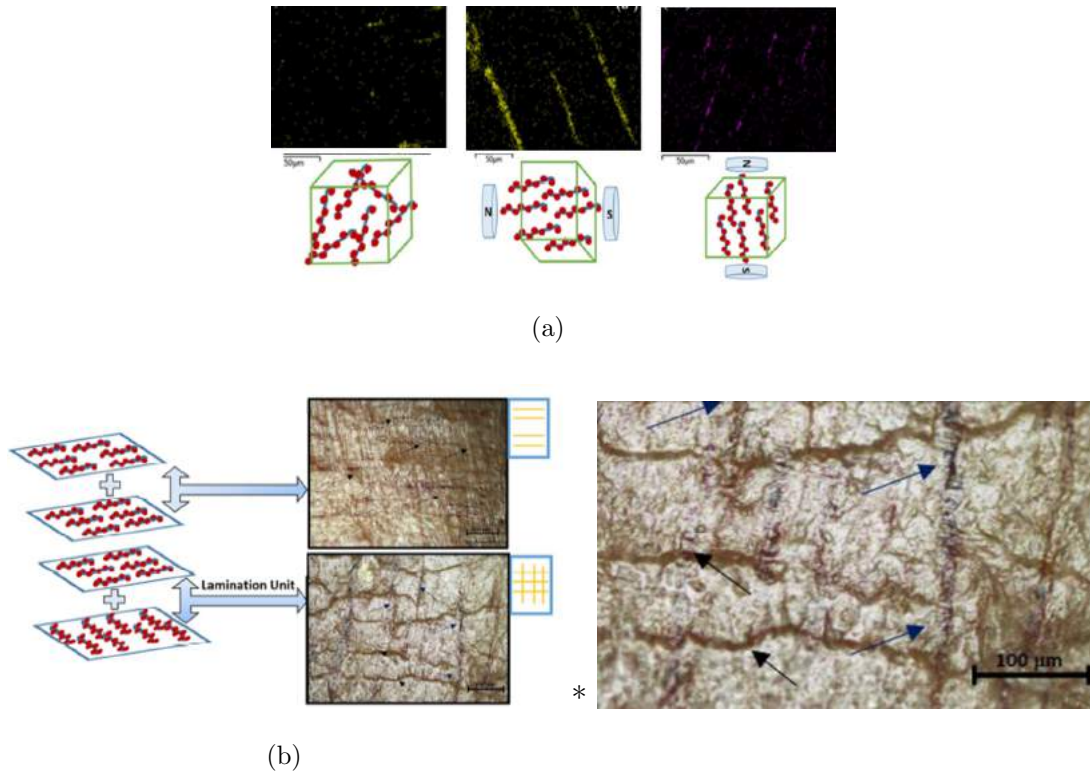


Figura 2.8: (a) Microscopía electrónica de rastreo SEM-EDX de las muestras con CNC no orientados (izquierda), paralelos (centro) y cruzados (derecha), las líneas amarillas y moradas descubren los nanocompuestos de hierro; (b) Diagramas esquemáticos de la alineación paralela (superior) y la cruzada (inferior) de las películas de CNC magnéticas dopadas y las imágenes ópticas correspondientes durante la laminación. Los CNC magnéticos en disposición paralela se marcan con flechas negras y las ortogonales con flechas azules. Tomado de [7]

búsqueda de una mejor alineación se han realizado estudios en películas sometidas a una gran variedad de características del campo eléctrico en cuanto a frecuencias e intensidad. Habibi y colaboradores, al igual que Bordel y colaboradores[9, 66], han evaluado la respuesta de los nanocristales ante campos eléctricos de corriente continua (CC) y corriente alterna

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

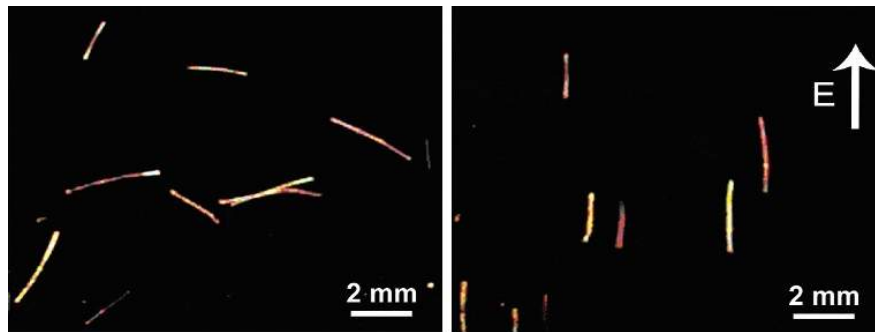


Figura 2.9: Micrografía óptica con luz polarizada de nanocristales de ortiga blanca con (a) ausencia de campo eléctrico y (b) en presencia de un campo eléctrico a una frecuencia de 1 kHz e intensidad de  $1200 \text{ Vcm}^{-1}$ . Tomado de [8]

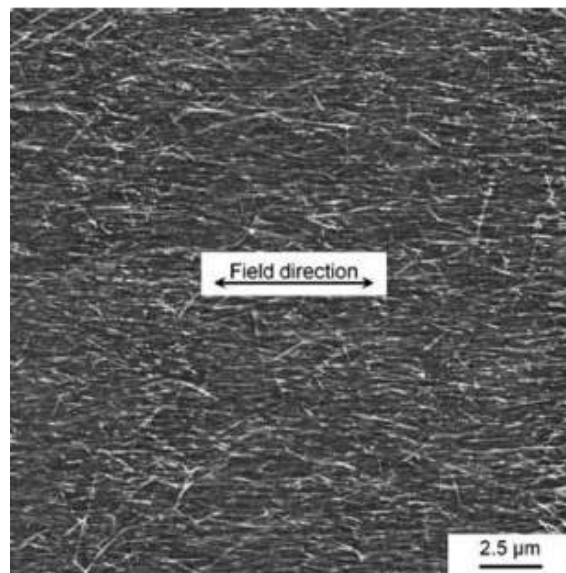


Figura 2.10: Micrografía TEM de una película seca en presencia de un campo eléctrico a una frecuencia de 250 kHz e intensidad de  $10 \text{ Vcm}^{-1}$ . Tomado de [9]

(CA), donde evidencian que la respuesta de los CNC ante la influencia del campo es muy similar para ambos casos, luego de corroborar que el uso de solventes apolares tóxicos resultan poco prácticos o factibles para aplicaciones industriales. La combinación de técnicas para



## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

la fabricación de recubrimientos o matrices estructuradas se han conjugado el método de cizallamiento a una velocidad de 1.4 mm/s, seguido de la aplicación de campo eléctrico a frecuencia e intensidad considerablemente más baja que lo reportado hasta el momento. Dadas las condiciones de 100 V/cm y frecuencia de 2 kHz, los resultados obtenidos con el mecanismo acoplado dio lugar a una mayor alineación de los CNC en comparación con la alineación utilizando cualquiera de las dos técnicas por separado [10], como puede observarse en la Figura 2.11.

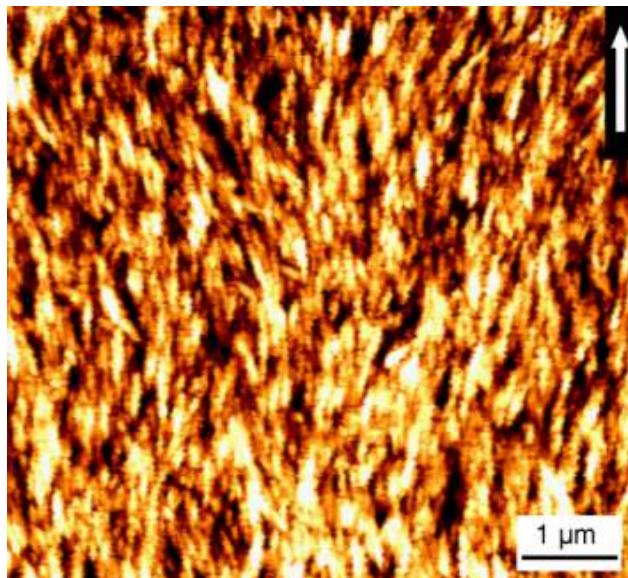


Figura 2.11: Imagen AFM de una película seca en presencia de un campo eléctrico. La flecha indica la dirección de campo eléctrico. Tomado de [10]



### 2.3.4. Alineación por inmersión

El método de inmersión consiste en sumergir verticalmente un sustrato en una solución del material a depositar, extraerlo, drenarlo y dejarlo secar. Este método es ampliamente usado en la fabricación de sustratos en la industria óptica. Basados en esto, es viable la manufactura de materiales anisótropos uniaxiales. Aunque se habría supuesto que esta técnica no era tan eficiente para la obtención de papeles birrefringentes con estructura nemática [60], en la actualidad se han reportado trabajos donde se evidencia una marcada alineación de partículas poliméricas de nanocelulosa. Eventualmente, se han descrito películas completamente funcionales donde se conjugan el parámetro de orientación con la técnica de cizallamiento por inmersión y el tiempo de inmersión [67, 68]. Se han reportado resultados en birrefringencia lineal muy favorables a esta técnica en películas no sonicadas para su homogeneización en soluciones a concentraciones por encima del 5 % en peso (ver Figura 2.12). Mendoza-Galván y colaboradores, evidencian películas con alta alineación uniaxial de los CNC por la técnica de inmersión, poniendo en juego de variables como pH, concentración de cristales, tiempo y velocidades de inmersión [11]. Las velocidades de prueba fueron 10 y 20 cm/min, resultado películas ultrafinas con grosores entre 2.8 y 6  $\mu\text{m}$  con transmitancias bien marcadas. En la Figura 2.12c se puede observar una evaluación cualitativa de la birrefringencia de estas nano hojas entre polarizadores lineales cruzados y seguido a esto la birrefringencia lineal para ambas velocidades de prueba.

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

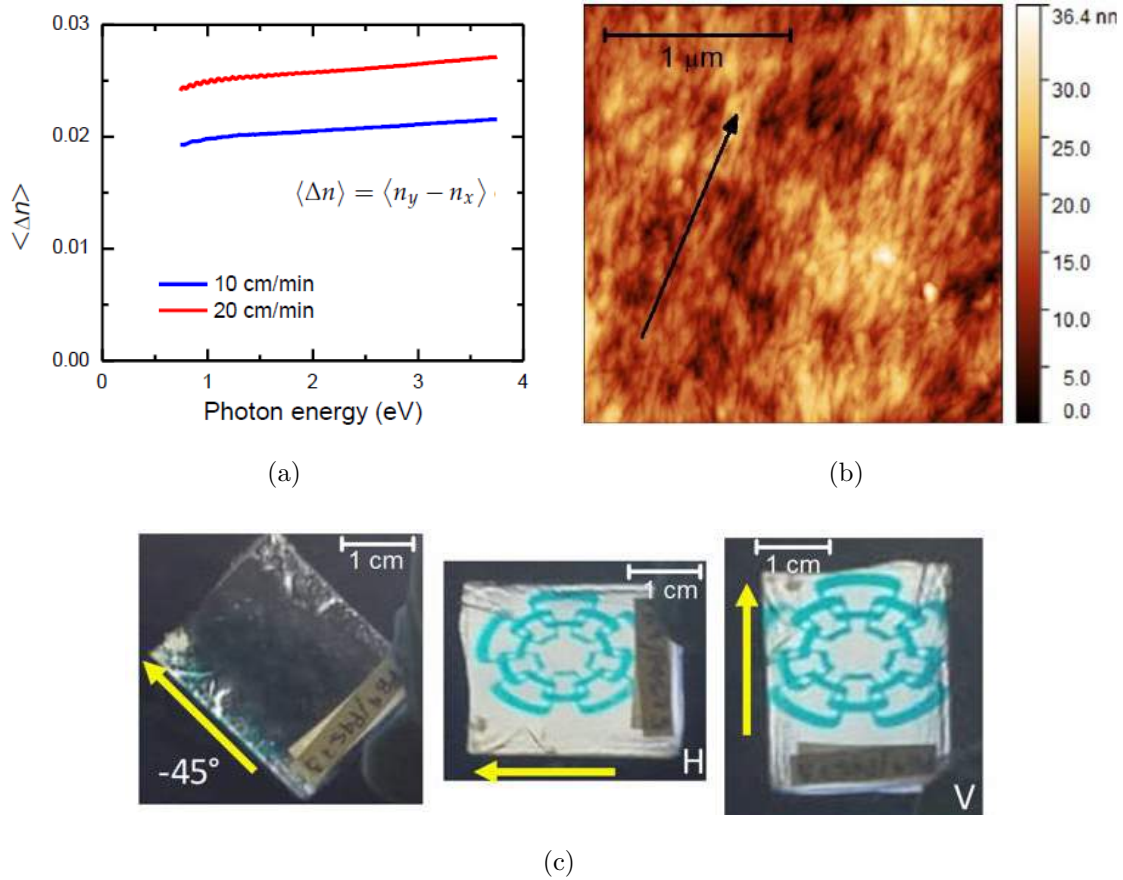


Figura 2.12: (a) Birrefringencia efectiva de películas con velocidades de inmersión de 10 cm/mín y 20 cm/mín , (b) Luz transmitida por película de 10 cm/min entre polarizadores lineales cruzados ( $\pm 45^\circ$ ) y (c) Imagen AFM de película a 10 cm/min. Tomado de [11]

### 2.3.5. Alineación por cizallamiento

El estrés o fuerzas aplicadas sobre dos cuerpos, provocando que un cuerpo se deslice con respecto del otro en dirección paralela a su plano de contacto, se conoce como cizallamiento.

En cristales de nanocelulosa, William J. Orts y colaboradores fueron pioneros en descubrir que existía un grado de alineación dependiente de la tasa de cizallamiento; para esto, emplearon

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

la técnica de dispersión de neutrones de ángulo pequeño (SANS, por sus siglas en inglés) [60]. Recientemente, se han reportado películas delgadas fabricadas bajo esta técnica, su uniformidad depende en gran medida de la concentración de CNC en la solución inicial; por lo que la concentración crítica para las soluciones sería el 7% en peso. En este trabajo aseguran, además, que la producción de estas películas ultrafinas es muy eficiente en cuanto a tiempos de producción y escalabilidad, lo que asegura un lugar bien marcado para su uso en recubrimientos y aplicaciones fotónicas [69]. En la Figura 2.13 se puede ver la respuesta



Figura 2.13: Representación esquemática de la teoría de dominios mesoscópicos de cristales bajo fuerzas cizallantes. Tomado de [12].

de películas delgadas fabricadas bajo este método, pero empleando la técnica de dispersión mediante una cuchilla con soluciones a altas concentraciones y diferentes velocidades de cizallamiento. En este trabajo se asegura que en función de la velocidad de cizallamiento existe una menor probabilidad de formación de estructura nemática quiral sobre la nemática a altas tasas de cizallamiento.

Recientemente, también se ha reportado la fabricación de películas ultrafinas bajo esta técnica pero con formación de estructuras quirales. Para lograr la configuración quiral uniforme en toda la película, se ha dejado estabilizar la solución de 6.7% en peso por 18 días. Una

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

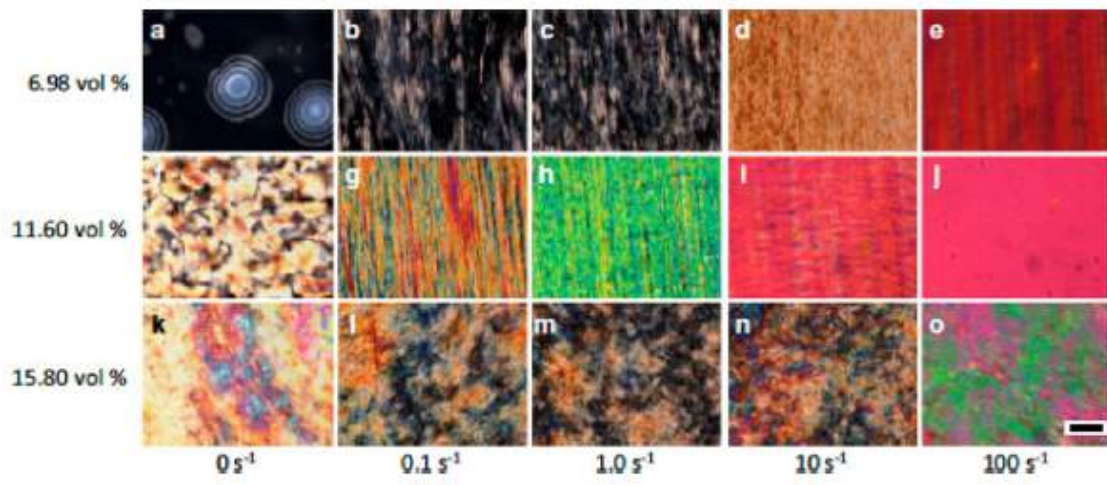


Figura 2.14: Dispersiones de CNC a diferentes concentraciones sometidas a diferentes velocidades de cizallamiento (dirección de flujo hacia arriba), observadas mediante microscopía óptica en modo de polarización lineal cruzada (a-o). La barra de escala corresponde a  $100\mu\text{m}$ . Tomado de [13, 14]

vez terminado este tiempo se depositó una cantidad de  $0.5\text{mL}$  sobre un portaobjetos como se muestra en la Figura 2.15a y se deja secar a una humedad relativa presuntamente alta para promover la torsión superficial entre los cristales. Dadas las condiciones de secado, la película resultante exhibe una iridiscencia hacia el azul, lo que supone una estructura quiral con tamaño de paso correspondiente a la longitud de onda del color expuesto entre polarizadores circulares ortogonales, como puede observarse en la Figura 2.15b. Evidentemente, la nanocelulosa se ha convertido en un polímero muy demandado en áreas como la industria farmacéutica, papel o la bioingeniería. Debido al creciente uso de este tipo de materiales en la fabricación de sensores ópticos, es necesario investigar en profundidad las propiedades estructurales que presentan bajo condiciones de laboratorio. Dadas las propiedades ópticas

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

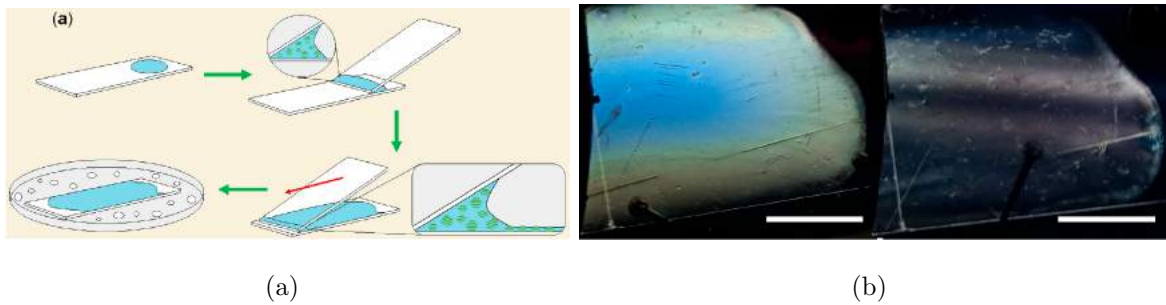


Figura 2.15: (a) Diagrama esquemático del método de preparación, (b) Iridiscencia de la película bajo luz circularmente polarizada con lateralidad izquierda y su complementario, la barra de escala corresponde a 1 *cm*. Tomado de [15]

de películas basadas en nanocelulosa, anteriormente descritas, la polarimetría resulta en una técnica adecuada para la caracterización estructural de este tipo de materiales.

### 2.4. Polarimetría

Cuando un material presenta propiedades ópticas que dependen de la dirección en la que sea estudiado, se considera un medio anisótropo ópticamente. La luz al interactuar con este puede modificar algunas de sus características descriptivas, especialmente el estado de polarización [70]. Esto convierte a la luz en una herramienta capaz de caracterizar y evaluar aquellos medios con los cuales tiene contacto. El estado de polarización o, simplemente, polarización es una propiedad de la luz que describe la vibración del campo eléctrico asociado a una onda electromagnética, este tema será abordado con mayor detalle en una sección posterior.

La luz polarizada es empleada por algunos seres vivos para orientarse o comunicarse [71],

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

característica que ha permitido a la ciencia comprender mucho mejor el mundo animal, y basar en su comportamiento, muchos mecanismos y sistemas tecnológicos modernos. Por ejemplo, estudiar la interacción de la luz polarizada con los tejidos biológicos, constituye una herramienta útil para el diagnóstico de diferentes patologías [72]. El primer reporte formal que describe la polarización de la luz fue publicado en el siglo XVII por Erasmus Bartolinus quien comprobó el fenómeno de doble refracción que ocurría cuando se hacía pasar luz a través de un cristal de calcita. Estudios posteriores realizados por Huygens, Newton, Malus Brewster y otros, contribuyeron a consolidar la teoría detrás de este fenómeno [73]. Existen métodos basados en luz polarizada (microscopia de luz polarizada convencional), que han demostrado gran utilidad para la predicción o explicación de ciertas estructuras, morfologías u orientación de ciertas sustancias o materiales poliméricos con anisotropía óptica, ya sea en solución o en estado sólido [74]. Actualmente, hay una gran variedad de técnicas para caracterizar materiales poliméricos como la microscopia electrónica, análisis de difracción de Rayos X, análisis de vibraciones mecánicas y espectroscopia (UV-Vis-NIR, Raman). Por otro lado, la caracterización mediante polarimetría puede ser capaz de ofrecer información mucho más específica sobre la estructura del material bajo estudio [75].

La polarimetría es un conjunto de técnicas que se ocupan del estudio del estado de polarización de la luz que ha interactuado con un medio para obtener de manera indirecta las propiedades ópticas del material, ya sea en transmisión como en reflexión. Actualmente, uno de los métodos más empleados para estudiar y caracterizar materiales que alteran las propiedades de polarización de la luz, es mediante los parámetros de Stokes y las matrices

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

de Mueller. Lo que hoy se conoce como vector de Stokes, fue descubierto hacia 1852 por George Stokes, quien demostró que la luz polarizada podía ser descrita en términos de cuatro observables. Los parámetros suelen agruparse en una matriz columna ( $4 \times 1$ ) que se conoce como vector de Stokes, el cual se describe con detalle en la sección 2.5 de este trabajo. Esta representación matemática permite su operación con las matrices de Mueller mediante la multiplicación matricial-vectorial [70]. Estos parámetros están definidos por seis mediciones de flujo polarizado descritas como polarización lineal horizontal, vertical y a  $\pm 45^\circ$ , sumado a esto los estados de polarización circular, levógiro y dextrógiro, permitiendo mediciones de haces de luz totalmente, parcialmente o no polarizados. Aunque en la bibliografía han sido reportadas técnicas para la reducción de este proceso y obtener el vector de Stokes a partir de solo cuatro medidas polarimétricas [70]. Por otro lado, la matriz de Mueller representa los efectos de transformación que experimenta un haz de luz polarizada al propagarse a través de un medio anisótropo, lo anterior se resume como una relación lineal entre cada elemento de salida con los parámetros de Stokes de entrada. Esta representación proporciona un método eficaz para determinar todas las propiedades de polarización de una muestra, dadas por diatenuación, despolarización y retardancia [70]. Los métodos de obtención de la matriz de Mueller son aplicados a instrumentación mediante polarimetría. En general, los polarímetros son instrumentos que permiten medir, visualizar y utilizar la información de polarización referente a medios o muestras, los cuales han sido concebidos de acuerdo a su aplicación, longitud de onda y velocidad. Entre los polarímetros más establecidos se encuentran los de división de amplitud y de frente de onda [76, 77]. En general, los polarímetros de Mueller se basan en una fuente de luz monocromática, un generador y un analizador de estados de

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

polarización seguido de un detector. Las mediciones polarimétricas pueden ser confiables solo si estos instrumentos están bien calibrados [78].

### 2.4.1. Estados de polarización

La polarización es una descripción del comportamiento temporal del campo eléctrico, asociado a la onda electromagnética, al observarlo desde un punto fijo del espacio (ver Figura 2.16). El vector de campo eléctrico, puede representarse a través de dos componentes ortonormales transversales a la dirección de propagación  $(E_{0x}, E_{0y})$  [79]. El caso más general de polarización son los estados elípticos, sin embargo, cuando las componentes ortonormales cumplen ciertas condiciones, se producen casos especiales del estado de polarización. Si  $E_{0y} = 0$  se produce polarización lineal horizontal, pero si  $E_{0x} = 0$  se genera luz linealmente polarizada vertical, 2.16a. En el caso de que ambas componentes tengan igual amplitud y la diferencia de fase entre ellas sea cero, se produce luz linealmente polarizada a  $\pm 45^\circ$ . Cuando, la diferencia de fase entre las componentes es  $\pi/2$  o  $3\pi/2$  la elipse se reduce a un círculo y se dice que la luz es circularmente polarizada (a izquierda o derecha) Figura 2.16b. La luz parcialmente polarizada es una mezcla de luz polarizada con luz no polarizada. La polarización es un parámetro importante con variedad de aplicaciones en áreas como la óptica, las comunicaciones, las ciencias biológicas [80] y en áreas de la ciencia relacionadas con las ondas transversales como la sismología y las microondas [81, 82, 83].



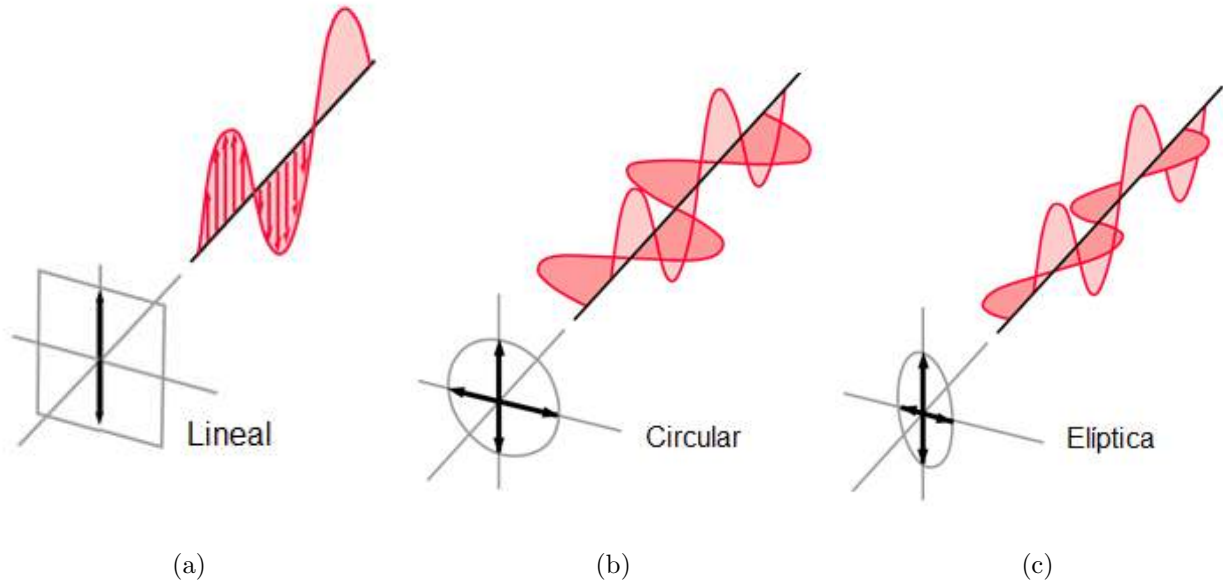


Figura 2.16: Propagación del vector de campo eléctrico en los estados de polarización (a) lineal, (b) circular y (c) elíptica.

## 2.5. Polarimetría de Stokes

La forma clásica de obtener los parámetros de Stokes para una onda plana es dada de la forma siguiente[84]:

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} \langle E_{0x}^2 \rangle + \langle E_{0y}^2 \rangle \\ \langle E_{0x}^2 \rangle - \langle E_{0y}^2 \rangle \\ 2\langle E_{0x}E_{0y} \cos \delta \rangle \\ 2\langle E_{0x}E_{0y} \sin \delta \rangle \end{pmatrix} \quad (2.1)$$

donde  $E_{0x}$  y  $E_{0y}$  representan las amplitudes de campo eléctrico en las direcciones  $x$  e  $y$  de propagación, los símbolos  $\langle \rangle$  indican el promedio temporal, y  $\delta$  es la diferencia de fases entre las componentes. Como se mencionó anteriormente, los parámetros de Stokes son cantidades

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

reales medibles que pueden expresarse como:

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{pmatrix} \quad (2.2)$$

donde  $I(S_0)$  representa la intensidad total del haz,  $Q(S_1)$  es la porción de luz que corresponde a polarización lineal (vertical u horizontal),  $U(S_2)$  es la porción que corresponde a polarización lineal a  $\pm 45^\circ$  y  $V(S_3)$  la correspondiente a polarización circular izquierda o derecha. A partir de estos parámetros es posible inferir la forma de la elipse de polarización.

Para mejorar la relación señal a ruido en las mediciones y los errores secuenciales, generalmente se emplean polarímetros de Stokes con más de 4 mediciones, sumado a esto el análisis del espectro en el dominio de las frecuencias empleando la Transformada de Fourier [70]. Otro método descrito es una modificación al arreglo clásico de un retardador de cuarto de onda fijo y un polarizador lineal giratorio, donde en este caso el elemento rotatorio del analizador es el retardador y el polarizador tiene su eje rápido en dirección horizontal ( $x$ ) [84], lo que permite automatizar el proceso. Además, ha sido reportado una técnica para medir los cuatro parámetros de polarización de Stokes mediante un simple polarizador circular [85]. Otros métodos han sido descritos como un fotopolarímetro de división de amplitud [86], formado básicamente por un divisor de haz, dos prismas de Wollaston y 4 detectores que permiten realizar una medida directa de los cuatro parámetros. Un método más preciso para

la caracterización puede resultar de la combinación de Stokes con la polarimetría de Mueller [87].

### 2.6. Polarimetría de Mueller

Existen diversos métodos bien establecidos para el análisis polarimétrico de medios mediante el cálculo de la matriz de Mueller, la cual puede ser determinada en transmisión, reflexión, retrorreflexión o esparcimiento, en dependencia de su aplicación final [70, 88]. Una forma clásica de obtener la matriz de Mueller de un elemento desconocido es a partir de medidas de intensidad, variando los estados de polarización en el generador y analizador del arreglo experimental. Cuando se hace incidir un haz polarizado sobre un medio polarizante o simplemente desconocido, emerge de este un haz de luz con una mezcla de estados de polarización que puede ser descrito mediante el vector de Stokes de salida como sigue [88]:

$$\mathbf{S}' = \mathbf{M} \cdot \mathbf{S} \quad (2.3)$$

$$\begin{pmatrix} S'_0 \\ S'_1 \\ S'_2 \\ S'_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} m_{00} & m_{01} & m_{02} & m_{03} \\ m_{10} & m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{20} & m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ m_{30} & m_{31} & m_{32} & m_{33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{pmatrix} \quad (2.4)$$

donde  $S'$  y  $S$  representan los vectores emergentes y de entrada respectivamente y  $M$  la matriz del medio. Esta matriz, conocida como la matriz de Mueller, puede ser descompuesta en términos de polarización, diatenuación, retardo y rotación óptica, ofreciendo este tipo de

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

información de los medios bajo estudio.

### 2.6.1. Matrices de Mueller de elementos ópticos

#### Polarizador lineal

Un polarizador, también conocido como diatenuador, es un elemento óptico que atenúa las componentes ortogonales de un haz de luz de forma diferente, donde los coeficientes de atenuación se representan como  $p_x$  y  $p_y$  [89]. No debe confundirse cuando se habla de un filtro de densidad neutra, donde se absorbe o atenúa la luz en la misma proporción para ambos componentes ortogonales. Si se hace incidir un haz de luz no polarizada ( $E$ ) sobre un polarizador lineal, la luz emergente ( $E'$ ) se puede representar como:

$$\begin{aligned} E'_x &= p_x E_x \\ E'_y &= p_y E_y \quad 0 \leq p_x, y \leq 1 \end{aligned} \tag{2.5}$$

Dada la ecuación anterior, se pueden presentar varios casos de análisis:

- Perfecta transmisión en uno de los ejes del polarizador  $p_x = 1$  o  $p_y = 1$ .
- Perfecta atenuación en uno de los ejes del polarizador  $p_x = 0$  o  $p_y = 0$

A partir de los parámetros de Stokes del haz emergente del polarizador lineal (PL) se obtiene la matriz de Mueller general para este tipo de elementos, la cual depende exclusivamente de

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

$p_x$  y  $p_y$

$$\mathbf{M} = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} p_x^2 + p_y^2 & p_x^2 - p_y^2 & 0 & 0 \\ p_x^2 - p_y^2 & p_x^2 + p_y^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 2p_x p_y & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 2p_x p_y \end{pmatrix}, \quad (2.6)$$

donde  $0 \leq p_x, y \leq 1$  y las cantidades  $p_{x,y}^2$  representan las intensidades de transmitancia en las componentes ortogonales del polarizador. En este sentido, la matriz de Mueller que representa un polarizador lineal ideal con el eje de transmisión horizontal está dada por

$$\mathbf{M} = \frac{p_x^2}{2} \begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad (2.7)$$

para el caso en que el eje de transmisión sea vertical, su MM correspondiente es

$$\mathbf{M} = \frac{p_y^2}{2} \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad (2.8)$$

considerando elementos ópticos ideales los factores de transmisión descritos en las ecuaciones 2.7 y 2.8 toman valores  $p_x = 1$  y  $p_y = 0$  respectivamente.

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

### Retardador lineal

Los retardadores lineales o placas retardadoras, son elementos ópticos donde el tiempo de vuelo que experimenta cada componente vectorial de la luz en su interior es diferente debido a la birrefringencia de material del cual está hecho. Lo anterior introduce una diferencia de fase adicional entre los componentes vectoriales de la luz y un cambio en el estado de polarización que es observado. Este tipo de componentes ópticas se caracterizan por tener un eje rápido y otro lento, donde la diferencia de fase entre ellos se denomina  $\phi$  y el haz de fotones emergente puede describirse en sus dos componentes como

$$\begin{aligned} E'_x(z, t) &= e^{+\phi/2} E_x(z, t) \\ E'_y(z, t) &= e^{-\phi/2} E_y(z, t) \end{aligned} \tag{2.9}$$

De aquí que la matriz de Mueller general para un elemento retardador es

$$\mathbf{M} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \cos \phi & \sin \phi \\ 0 & 0 & -\sin \phi & \cos \phi \end{pmatrix}, \tag{2.10}$$

En el caso de una lámina retardadora de cuarto de onda, donde las componentes del campo incidente son retardadas entre sí un cuarto de longitud de onda, la diferencia de fase entre ellas es  $\phi = 90^\circ$ . Si se cuenta con un retardador de media onda, la fase entre las componentes ortogonales es  $\phi = 180^\circ$ . Para el caso en que el eje rápido de las placas retardadoras esté

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

rotado a un ángulo diferente de  $0^\circ$ , su matriz de Mueller puede ser descrita como

$$\mathbf{M} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos^2 2\theta + \sin^2 2\theta \cos \phi & (1 - \cos \phi) \sin 2\theta \cos 2\theta & -\sin 2\theta \sin \phi \\ 0 & (1 - \cos \phi) \sin 2\theta \cos 2\theta & \sin^2 2\theta + \cos^2 2\theta \cos \phi & \cos 2\theta \sin \phi \\ 0 & \sin 2\theta \sin \phi & -\cos 2\theta \sin \phi & \cos \phi \end{pmatrix}, \quad (2.11)$$

donde  $\theta$  representa el ángulo de rotación del eje rápido de la placa retardadora.

### 2.7. Polarímetros de Mueller

Un polarímetro de Mueller completo consta de una etapa generadora (PSG) y otra etapa analizadora de estados de polarización (PSA), como se muestra en la Figura 2.17 [89]. La matriz de Mueller se calcula a partir de 16 ecuaciones que se obtienen al realizar 16 mediciones de intensidad para diferentes configuraciones de las etapas PSG y PSA. El método para obtener los coeficientes de la matriz de Mueller a partir de la solución de este sistema de ecuaciones se conoce como el método Bickel y Bailey [90]. Por otro lado, se han implementado desarrollos matemáticos y experimentales para optimizar estas medidas y reducir los errores que se pueden acarrear en estos instrumentos [91, 92].

Se ha demostrado la practicidad para obtener la matriz de Mueller de la muestra bajo prueba de polarímetros como los basados en elementos giratorios o los polarímetros de modulación de fase. Este último emplea moduladores electro-ópticos para generar los retardos en las



Figura 2.17: Diagrama general de un polarímetro de Mueller.

etapas del instrumento, por otro lado, los polarímetros con elementos rotatorios emplean polarizadores y placas retardadoras de cuarto de onda con cierta razón de rotación mecánica para lograr las mediciones requeridas [93]. Existen otros tipos de polarímetros completos o incompletos como pueden ser los de división de amplitud o de división de plano focal, los cuales no abordaremos con detalle en este trabajo de tesis.

### 2.7.1. Polarímetro con doble retardador rotatorio

La polarimetría matricial de Mueller es una técnica óptica ampliamente utilizada para la caracterización de materiales, ya se trate de objetos conocidos o desconocidos. La matriz de Mueller de  $4 \times 4$  es característica de cada medio óptico y la luz transmitida tiene propiedades que dependen de la interacción que ha sufrido con el medio de ensayo. En un polarímetro de Mueller ideal de placa de onda giratoria, y despreciando los efectos de polarización introducidos por las diferentes lentes del dispositivo de caracterización, el vector de Stokes del haz emergente tras propagarse a través de los componentes ópticos anisótropos y la muestra



## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

puede describirse mediante una transformación lineal dada como

$$\mathbf{S}_o(\theta_1, \theta_2) = \mathbf{P}(0)\mathbf{C}(\theta_2)\mathbf{M}_s\mathbf{C}(\theta_1)\mathbf{P}(0)\mathbf{S}_i, \quad (2.12)$$

donde  $\mathbf{S}_i = \{I_i, Q_i, U_i, V_i\}^T$  es el vector Stokes del haz de luz de la sonda proporcionado por la fuente de iluminación;  $\mathbf{P}(0)$  es la matriz de Mueller que representa un polarizador lineal con su eje de transmisión a lo largo del eje horizontal descrito en Eqn.(2.7).  $\mathbf{C}(\theta_{1,2})$  es la matriz de Mueller de una placa acromática de cuarto de onda rotada con el eje rápido orientado en un ángulo  $(\theta_{1,2})$  especificado en la Eqn. (2.11).

La muestra se representa mediante la matriz de Mueller  $\mathbf{M}_s$  con coeficientes desconocidos  $m_{ij}$ ,  $i, j = \{1, \dots, 4\}$ . La relación de paso angular  $\theta_1 : \theta_2$  entre los elementos giratorios PSG y PSA se fijó en 1:5. El arreglo 2D de sensores CMOS colocado a la salida del sistema iMMPM permitió la adquisición de un conjunto de 50 imágenes, que se capturaron durante una rotación completa del retardador de cuarto de onda PSG en pasos angulares equidistantes de  $7,2^\circ$ , para formar un cubo de datos de imagen como se muestra en la Figura 2.18 Se escogió este tamaño específico de imágenes con el objetivo de lograr un término medio entre calidad en las mediciones para poder describir mejor las propiedades polarimétricas de las muestras y el tiempo de cómputo o procesamiento de las imágenes.

La intensidad transmitida recibida por un solo píxel, dada por la primera fila de  $\mathbf{S}_o(\theta_1, \theta_2)$ , analizada a través de la profundidad del cubo de datos, muestra una modulación estrechamente ligada a la relación de pasos angulares. Definiendo  $\theta_1 = \theta$  y  $\theta_2 = 5\theta$ , la intensidad

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

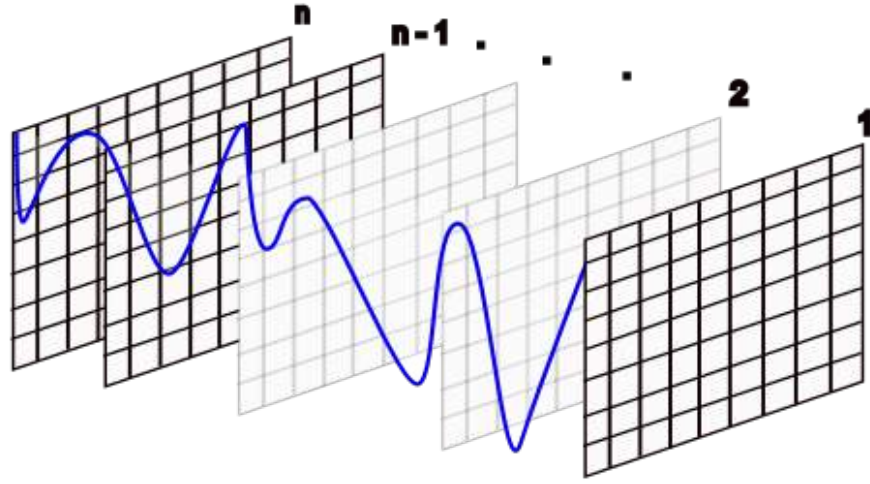


Figura 2.18: Cubo de datos de las 50 imágenes obtenidas por la rotación de  $360^\circ$  del retardador de cuarto de onda PSG.

total del haz de salida  $I_o(\theta)$  se describe mediante una serie de Fourier truncada dada como

$$\begin{aligned}
 I_o(\theta) = & \frac{(m_{32} + m_{23}) \sin(24\theta) + (m_{22} - m_{33}) \cos(24\theta)}{16} + \frac{m_{24} \sin(22\theta) - m_{34} \cos(22\theta)}{8} \\
 & + \frac{(m_{32} + 2m_{31}) \sin(20\theta) + (m_{22} + 2m_{21}) \cos(20\theta)}{8} \\
 & + \frac{-m_{24} \sin(18\theta) + m_{34} \cos(18\theta)}{8} + \frac{(m_{32} - m_{23}) \sin(16\theta) + (m_{33} + m_{22}) \cos(16\theta)}{16} \\
 & + \frac{-m_{42} \sin(14\theta) + m_{43} \cos(14\theta)}{8} + \frac{m_{44} \cos(12\theta)}{4} + \frac{(-m_{42} - 2m_{41}) \sin(10\theta)}{4} - \frac{m_{44} \cos(8\theta)}{4} \\
 & + \frac{-m_{42} \sin(6\theta) - m_{43} \cos(6\theta)}{8} + \frac{(m_{23} + 2m_{13}) \sin(4\theta) + (m_{22} + 2m_{12}) \cos(4\theta)}{8} \\
 & + \frac{(m_{24} + 2m_{14}) \sin(2\theta)}{4} + \frac{m_{22} + 2m_{21} + 2m_{12} + 4m_{11}}{8}.
 \end{aligned} \tag{2.13}$$

Una vez obtenido el perfil de intensidad, éste se analiza numéricamente mediante la técnica de Fourier con el fin de calcular los coeficientes desconocidos de la matriz de Mueller para

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

el área de la muestra que forma su imagen sobre el píxel dado [94]. Puede observarse que el lado derecho de la igualdad expresada en la Ec. 2.13 consta de 20 términos armónicos y un término constante (DC), lo cual será reescrito de la siguiente manera

$$\begin{aligned}
 I_o(\theta) = & U \sin(24\theta) + T \cos(24\theta) + S \sin(22\theta) + R \cos(22\theta) + Q \sin(20\theta) + P \cos(20\theta) \\
 & + O \sin(18\theta) + N \cos(18\theta) + M \sin(16\theta) + L \cos(16\theta) + K \sin(14\theta) + J \cos(14\theta) \\
 & + I \cos(12\theta) + H \sin(10\theta) + G \cos(8\theta) + F \sin(6\theta) + E \cos(6\theta) + D \sin(4\theta) \\
 & + C \cos(4\theta) + B \sin(2\theta) + A,
 \end{aligned} \tag{2.14}$$

por lo que

$$\begin{aligned}
 A = \frac{m_{22} + 2m_{21} + 2m_{12} + 4m_{11}}{8}, & B = \frac{m_{24} + 2m_{14}}{4}, & C = \frac{m_{22} + 2m_{12}}{8}, \\
 D = \frac{m_{23} + 2m_{13}}{8}, & E = -\frac{m_{43}}{8}, & F = -\frac{m_{42}}{8}, \\
 G = -\frac{m_{44}}{4}, & H = -\frac{m_{42} + 2m_{41}}{8}, & I = \frac{m_{44}}{4}, \\
 J = \frac{m_{43}}{8}, & K = -\frac{m_{42}}{8}, & L = \frac{m_{33} + m_{22}}{16}, \\
 M = \frac{m_{32} - m_{23}}{16}, & N = \frac{m_{34}}{8}, & O = -\frac{m_{24}}{8}, \\
 P = \frac{m_{22} + m_{21}}{8}, & Q = \frac{m_{32} + 2m_{31}}{8}, & R = -\frac{m_{34}}{8}, \\
 S = \frac{m_{24}}{8}, & T = \frac{m_{22} - m_{33}}{8}, & U = \frac{m_{32} + m_{23}}{8}.
 \end{aligned} \tag{2.15}$$

Cada coeficiente de la serie de Fourier truncada es recuperado mediante la sintonización a la frecuencia de interés. De esta forma, siendo  $\theta_p$  y  $N$  el paso angular y el número de pasos,

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

respectivamente,

$$\begin{aligned}
 A &= \frac{1}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p), \\
 B &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(2\theta_p), \\
 C &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(4\theta_p), \\
 D &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(4\theta_p), \\
 E &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(6\theta_p) = -J = -\frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(14\theta_p), \\
 F &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(6\theta_p) = K = \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(14\theta_p), \\
 G &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(8\theta_p) = -I = -\frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(12\theta_p), \\
 H &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(10\theta_p), \\
 L &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(16\theta_p), \\
 M &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(16\theta_p), \\
 N &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(18\theta_p) = -R = -\frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(22\theta_p), \\
 O &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(18\theta_p) = -S = -\frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(22\theta_p), \\
 P &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(20\theta_p), \\
 Q &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(20\theta_p), \\
 T &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \cos(24\theta_p), \\
 U &= \frac{2}{N} \sum_{n=0}^N I_o(n\theta_p) \sin(24\theta_p). \tag{2.16}
 \end{aligned}$$

Los coeficientes calculados permiten establecer un sistema de ecuaciones que involucra los coeficientes  $m_{ij}$  de la matriz de Mueller. Debe observarse que el número total de ecuaciones

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

se ha reducido debido a que algunos coeficientes son obtenidos a través de dos armónicas diferentes. En consecuencia, debido a que sólo necesitamos 16 ecuaciones para determinar las 16 incógnitas en la matriz de Mueller, el sistema está sobredeterminado por lo que algunas soluciones se descartarán por duplicidad. Resolviendo el sistema de ecuaciones para  $m_{ij}$ , obtenemos

$$\begin{aligned}
 m_{11} &= 2T - 4P + 4L - 2C + 2A, & m_{12} &= -2T - 4L + 4C, & m_{13} &= -2U + 4M + 4D, & m_{14} &= 4O + 2B, \\
 m_{21} &= -4T + 8P - 8L, & m_{22} &= 4T + 8L, & m_{23} &= 4U - 8M, & m_{24} &= -8O, \\
 m_{31} &= -2U + 4Q - 4M, & m_{32} &= 4U + 8M, & m_{33} &= 8L - 4T, & m_{34} &= 8N, \\
 m_{41} &= 4F - 4H, & m_{42} &= -8F, & m_{43} &= -8E, & m_{44} &= -4G,
 \end{aligned} \tag{2.17}$$

Este proceso se repite para cada uno de los píxeles del fotograma con el fin de obtener una matriz de imagen de  $4 \times 4$ , cada una de  $1280 \times 1024$  píxeles de resolución. Sin embargo, las propiedades anisótropas ópticas fundamentales, como la diatenuación, la retardancia y la despolarización, no pueden interpretarse directamente a partir de la matriz de Mueller calculada. Entonces, se debe aplicar un tratamiento algebraico adicional, conocido como descomposición polar de Lu-Chipman, para desacoplarlas. Esto consiste en representar  $\mathbf{M}_S$  como un producto algebraico de tres matrices de anisotropía puras; esto es, [95]

$$\mathbf{M}_S = \mathbf{M}_\Delta \mathbf{M}_R \mathbf{M}_D, \tag{2.18}$$

en las que  $\mathbf{M}_\Delta$ ,  $\mathbf{M}_R$  y  $\mathbf{M}_D$  son matrices de Mueller de despolarización, retardancia y diatenuación, respectivamente. Dado que las muestras analizadas no proporcionan información relevante en cuanto a despolarización y diatenuación, el presente estudio se centrará únicamente en los valores de birrefringencia lineal  $\delta$  y rotación óptica  $\psi$  exhibidos por las diferentes películas CNC estudiadas. Estos parámetros se derivan de los coeficientes  $\mathbf{M}_R$  de la siguiente

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

manera

$$\delta = \cos^{-1} \left\{ \sqrt{[\mathbf{M}_R(2,2) + \mathbf{M}_R(3,3)]^2 + [\mathbf{M}_R(3,2) + \mathbf{M}_R(2,3)]^2 - 1} \right\}, \quad (2.19)$$

y

$$\psi = \tan^{-1} \left[ \frac{\mathbf{M}_R(3,2) - \mathbf{M}_R(2,3)}{\mathbf{M}_R(2,2) - \mathbf{M}_R(3,3)} \right], \quad (2.20)$$

donde  $\mathbf{M}_R(i, j)$  indica el coeficiente en la fila  $i$ -ésima y la columna  $j$ -ésima de la matriz de Mueller de retardancia. Este tratamiento algebraico para desacoplar las anisotropías ópticas se realiza para cada píxel, independientemente para construir finalmente las imágenes correspondientes a  $\delta$  y  $\psi$ . En la sección 2.2 se describió cuáles son las posibles estructuras que se forman en las películas a base de CNC dada la morfología de los cristales. Las anisotropías ópticas que se asocian a este tipo de conformación estructural son birrefringencia lineal y circular principalmente, aunque puede haber diatenuación va a depender en gran medida de la cantidad de luz que puedan absorber este tipo de materiales. En los últimos años, se han reportado investigaciones donde se propone este tipo de películas como material funcional en la creación de dispositivos ópticos, como es el caso de retardadores de cuarto o media onda; con una buena respuesta acromática. En el caso de la birrefringencia lineal, conocer la orientación del eje rápido tiene una notable importancia para efectos prácticos. Una vez obtenido el vector de retardo, extraído a partir de la matriz de retardo ( $M_{R_{ij}}$ ), la orientación del eje rápido ( $\theta_{OA}$ ) de la birrefringencia lineal de un material se puede determinar como:

$$\theta_{OA} = \frac{1}{2} \arctan \left( \frac{R_2}{R_1} \right), \quad (2.21)$$

donde  $R_1$  y  $R_2$  representan los valores de retardo a lo largo del eje horizontal/vertical y

$+45^\circ/-45^\circ$ , respectivamente.

### 2.8. Fluorescencia inducida con luz polarizada

La radiación electromagnética clasificada como “fluorescencia” es un tipo de fotoluminiscencia, la cual caracteriza a ciertas sustancias (molécula o estructura supramolecular) que son capaces de absorber energía electromagnética y emitirla, al decaer los electrones excitados, con una longitud de onda mayor (energía menor). Cuando la luminiscencia decae en un tiempo  $t < 10^{-8}$  s, se considera fluorescencia y si está por encima de este umbral se considera un proceso de fosforescencia [96][97]. Al compuesto químico capaz de emitir fluorescencia se le conoce como fluoróforo.

Los fluoróforos presentan momentos de transición para la absorción y la emisión, los cuales se ubican a lo largo de direcciones específicas dentro de la estructura de los mismos. En una muestra donde los fluoróforos están orientados de forma aleatoria, si se irradia con luz polarizada, serán excitados preferentemente aquellos fluoróforos cuyos momentos de absorción están orientados a lo largo de la dirección de campo eléctrico [96, 98]. Por otro lado, se ha demostrado que cuando los fluoróforos se unen a alguna molécula objetivo dentro de la muestra, sus orientaciones están correlacionadas y el grado de correlación está condicionada por la rigidez de ese enlace [99]. Ha sido reportado el uso de este tipo de técnicas en aplicaciones asociadas a imagenología de superresolución, donde en la mayoría de los casos, el fluorocromo está unido a la matriz cuyas moléculas están alineadas. Por ejemplo, L. Chen et al. en

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

---

un estudio realizado a proteínas (septina Cdc12) presentes en la levadura, demostraron que dependiendo de la estructura del fluoróforo empleado (GFP3 o GFP4) este se puede unir a la molécula objetivo de forma paralela u ortogonal [100](Ver fig 2.19). Dependiendo de cuán fuerte sea la unión fluoróforo-molécula, así será la concordancia entre la polarización de la luz emitida con respecto a la polarización de la luz de excitación. Lo relevante de esta técnica es que si se manipula la polarización de la luz de excitación de tal forma que la dirección del campo eléctrico coincida con la orientación de los fluoróforos se espera que ocurra una mejora en la fluorescencia inducida.

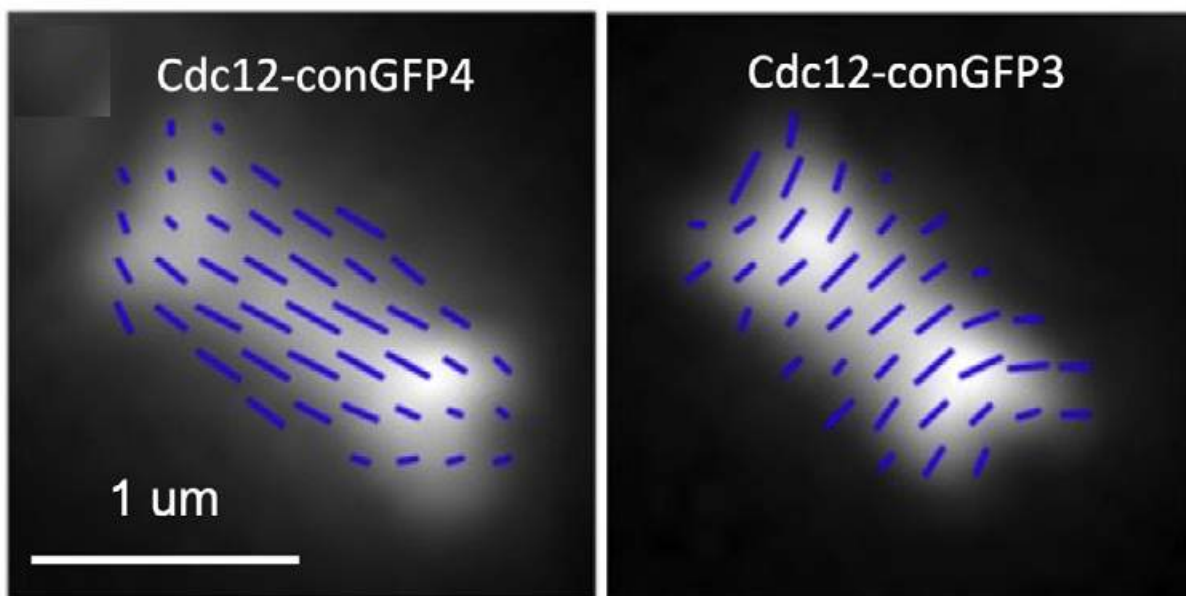


Figura 2.19: Orientación del fluoróforo GFP con respecto a la molécula septina



# Capítulo 3

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Técnicas de fabricación de películas

Recientemente, ha surgido un interés muy marcado en el desarrollo de sensores ópticos empleando técnicas de alineación de los nanocristales de celulosa. En este trabajo empleamos esencialmente solo las técnicas de fabricación del nanopapel a partir del autoensamble inducido por evaporación y cizallamiento. En el primero de los casos, las nanovarillas se autoalinean, formando micro y macroestructuras nemáticas que experimentan birrefringencia lineal o circular, según la nanoformación experimentada durante el proceso de secado. Los componentes químicos que se emplearon en el laboratorio para la obtención de los papeles como el hidróxido de sodio (NaOH) y el ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) para modificar el pH del agua tridestilada como solvente, se emplearon sin modificarlos. Los nanocristales de celulosa

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

fueron suministrados por la industria Nanografi Nano-Technology, los cuales se obtuvieron mediante hidrólisis ácida de biomasa leñoza, con 10 – 20 nm de diámetro y 300 – 900 nm de longitud. Estas propiedades físicas afectan a la formación de la estructura nemática quirál en las soluciones y finalmente, en las películas secas.

#### 3.1.1. EISA

Los nanopapeles fabricados bajo la técnica EISA fueron sometidos a un proceso de secado a altos niveles de humedad relativa (80 – 95%), esto con la finalidad de lograr hojas más homogéneas tanto superficialmente como en sus propiedades ópticas. Se ha reportado en la bibliografía que altos niveles de humedad favorecen a la formación de estructuras quirales del tamaño de las longitudes de ondas largas (parte roja del espectro electromagnético). Se prepararon soluciones disolviendo el polvo de CNC en agua tridestilada a temperatura ambiente mediante agitación magnética a concentraciones de 3 %wt, 4 %wt y 5 %wt. El proceso de disolución se realizó a 1500rpm durante 3 horas y seguido a esto las soluciones se sometió a un proceso de desgasificación a baja velocidad durante cierto tiempo. Posteriormente, se separaron 7 porciones de solución para modificar sus valores de potencial hidrógeno (pH) añadiendo concentraciones muy bajas de  $H_2SO_4$  y NaOH, de forma tal que no afectan las concentraciones iniciales de CNC. Los valores de pH entre 3 y 9 se ajustaron empleando el medidor de pH HANNA Instruments con una resolución de 0.1. Una vez obtenidas las soluciones, se vertieron 6mL de cada una en placas Petri de poliestireno estériles de 60mm de diámetro, y se dejaron estabilizar por 15 días[101] y secar por el método EISA durante

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

3-5 días (El tiempo de secado depende de la concentración de CNC y el pH). Una vez secas

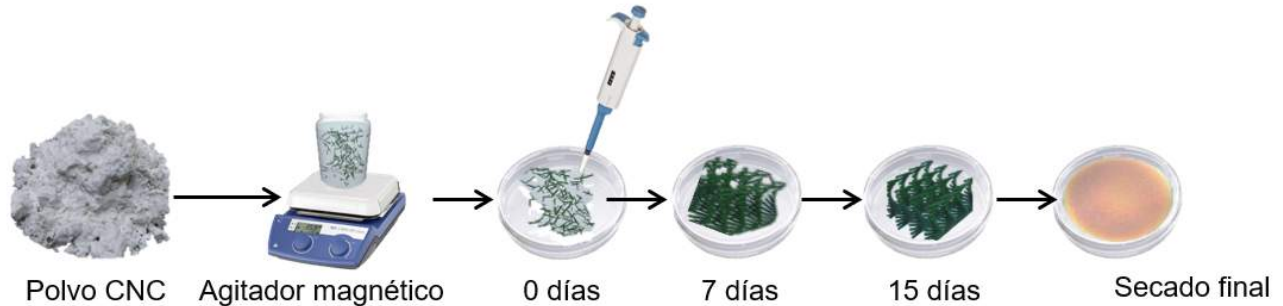


Figura 3.1: Proceso de fabricación de hojas de CNC por el método EISA.

las películas de CNC, se etiquetaron según su concentración y pH; de forma tal que todos los números del lado izquierdo de la letra **C** representan la concentración inicial del soluto en la solución y la numeración del lado derecho indica el pH final. De este modo, se obtuvieron las muestras presentadas en el Cuadro: 3.1

#### 3.1.2. Técnica de inmersión

Con la intención de forzar la formación de películas anisótropas más homogéneas en cuanto a sus propiedades ópticas, se procedió a fabricar muestras mediante el método de inmersión (*dip-coating*). En este caso la solución se preparó a una concentración del 5%wt de CNC y a un valor de pH neutro. Para esto, se empleó el arreglo experimental de la Figura 3.2, donde computacionalmente se logra variar la velocidad de inmersión y de extracción del substrato con película hidrofóbica sobre la cual se realiza el depósito. Las pruebas fueron realizadas a velocidades comprendidas entre 0.33 mm/s a 10 mm/s. Los portaobjetos de vidrio ( $25 \times 75$  mm de Corning 2947) se sumergen en la solución durante 60 segundos para

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

Concentración	Letra	Valor de pH	Código
3 %wt	C	3	3 C 3
3 %wt	C	4	3 C 4
3 %wt	C	5...9	3 C 5...9
4 %wt	C	3	4 C 3
4 %wt	C	4	4 C 4
4 %wt	C	5...9	4 C 5...9
5 %wt	C	3	5 C 3
5 %wt	C	4	5 C 4
5 %wt	C	5...9	5 C 5...9

Cuadro 3.1: Código de muestras fabricadas por la técnica EISA.

favorecer el depósito de los nanocristales, luego de esto, la muestra se retira de la solución y se deja secar por goteo a condiciones ambiente. En la Figura 3.2 M1 y M2 son motores a pasos (Nema 17) que controlan la velocidad de inmersión y el posicionamiento del portaobjetos (M5) respectivamente, M4 representa el portamuestras, mientras M6 y M7 son las soluciones con/sin fluoróforo disperso respectivamente; en ambos casos la concentración de CNC es la misma. En la bibliografía se ha descrito esta técnica para la formación de estructuras nemáticas. En [102] reportan velocidades de 10 y 20 cm/min para la obtención de películas con alta birrefringencia lineal.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

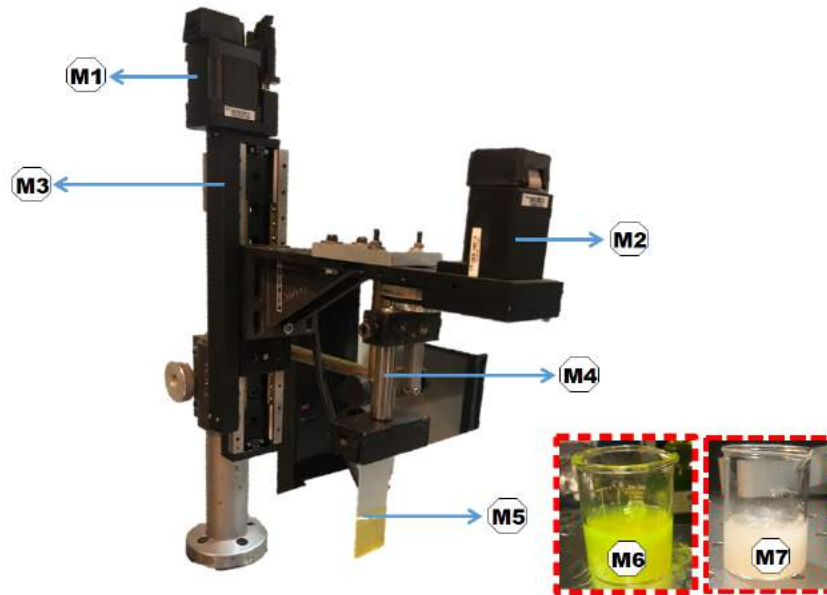


Figura 3.2: Arreglo experimental para la fabricación de películas por la técnica de inmersión. M1 y M2 son motores a pasos, M3 montura deslizante, M4 portamuestra, M5 es el portaobjetos donde se deposita la solución sin teñir(M7) y teñida (M6).

#### **Películas fluorescentes por *dip-coating***

Debido al buen comportamiento de alineación de los cristales de nanocelulosa, favoreciendo la birrefringencia lineal que presentan las películas de CNC fabricadas bajo la técnica de inmersión, se procedió a realizar el estudio de factibilidad de emplear este método para películas teñidas con el fluoróforo sensible a pH (Fluoresceína sódica). Para esto, se realizó un estudio de la respuesta de absorción de este fluorocromo ante valores de pH entre 3 y 10. El interés de evaluar en este intervalo de potencial hidrógeno se debe al hecho de poder evaluar la implementación de estas películas como plataforma de sensado en medios con pH variable, específicamente en fluidos biológicos donde este intervalo de pH es muy importante.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

Seguido a esto, se preparó una solución de uranina al valor de pH óptimo (de mayor emisión en solución líquida) con una concentración de nanocristales al 5 %wt para fabricar películas fluorescentes y evaluar la anisotropía de fluorescencia presente en este tipo de material. El método de fabricación se realizó de la misma forma descrita en la sección 3.1.2. Una vez secas, las muestras se separaron del substrato para su posterior evaluación.

#### 3.2. Arreglo polarimétrico nulo

Una técnica bien conocida para la caracterización cualitativa de la birrefringencia de un material anisótropo es el arreglo polarimétrico nulo. Este arreglo experimental consta de dos polarizadores lineales con sus ejes de transmisión orientados de forma ortogonal entre sí. En este caso particular se ha empleado la iluminación polarizada a  $45^\circ$  que emerge de una computadora personal con el logo del Centro de Investigaciones en Óptica (CIO) y justo en frente se colocó un polarizador lineal rotatorio, el cual se posicionó a  $45^\circ$  (paralelo a la pantalla y con máxima transmisión) y a  $-45^\circ$  (ortogonal a la pantalla, sin luz transmitida), como se muestra en la Figura 3.3. Seguido a esto, se colocaron las muestras en medio, con la intención de evaluar visualmente los cambios de intensidad sobre el patrón de la pantalla.

Por otra parte, cuando se pretende evaluar la anisotropía referente a las estructuras nemáticas quirales, se puede emplear un arreglo polarimétrico nulo como el anterior, pero empleando luz polarizada circular con estados ortogonales, como se muestra en la Figura 3.4. Se ha reportado que cuando se evalúan muestras poliméricas con estructuras quirales, se debe incidir

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

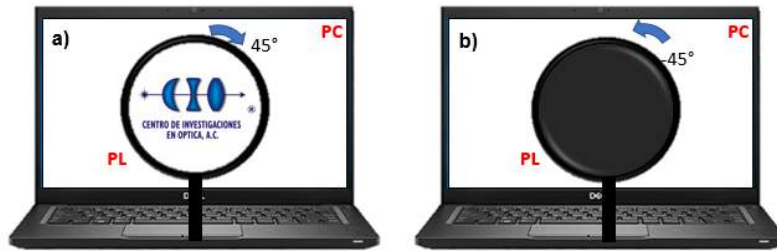


Figura 3.3: Arreglo polarimétrico con estados de polarización lineales paralelos (a) y ortogonales (b), con una computadora personal (PC) y un polarizador lineal (PL) con eje principal a  $\pm 45^\circ$ .

luz circularmente polarizada a derechas en arreglos en transmisión, mientras, en análisis por reflexión, la estructura responde a luz circularmente polarizada a izquierdas [103, 104]. En

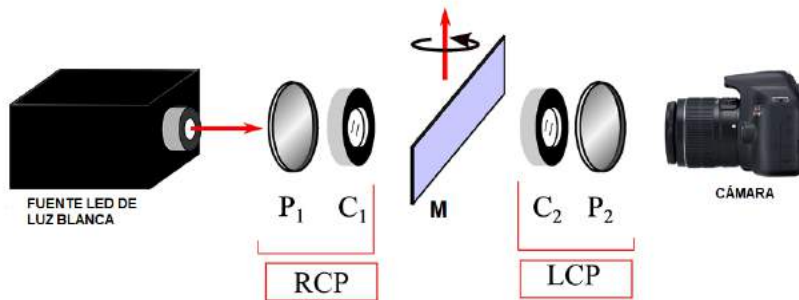


Figura 3.4: Esquema para capturar el efecto iridiscente en las películas.  $P_i$  y  $C_i$  son polarizadores lineales y placas retardadoras de cuarto de onda, respectivamente. M es la muestra.

el caso de este tipo de estructuras helicoidales, la longitud de onda reflejada depende de parámetros como el índice de refracción ( $n_{avg}$ ) del papel, el tamaño del paso quiral ( $p$ ) y el ángulo de la luz incidente ( $\sin \theta$ ) [105].

$$\lambda_{ref} = n_{avg} \times p \times \sin \theta \quad (3.1)$$

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

El color estructural reflejado por el material o el nanopapel va a depender del tamaño del paso de la estructura colestérica formada durante el proceso de secado. De esta forma, cuando la mitad del paso ( $p/2$ ) coincide con la longitud de onda de luz que se encuentra en región visible del espectro, aparecen estos colores, los cuales pueden ser modificados aplicando fuerzas externas.

#### 3.3. Espectrometría UV-Vis

La técnica de espectrometría UV-Vis se empleó para obtener los espectros de transmitancia con luz no polarizada y con luz polarizada circular derecha de todas las muestras fabricadas. Se empleó el espectrofotómetro Cary 5000 UV-Vis-NIR de Agilent Technologies en un intervalo de análisis de 200-800 nm. Debido a que las películas no estaban depositadas sobre ningún sustrato, el instrumento se calibró sin muestra de referencia en el caso de las medidas con luz no polarizada. Para las medidas de espectros de transmitancia con luz incidente con polarización circular, se tomó como referencia el polarizador circular fabricado en el laboratorio, de forma tal que el instrumento sea capaz de contrarrestar la respuesta del elemento polarizador añadido. Estas dos pruebas se realizaron para evaluar la transparencia de las películas y evidenciar la existencia de posibles estructuras quirales con tamaño de paso equivalente a las longitudes de onda donde experimentan un mínimo de transmitancia. respectivamente. En cualquier circunstancia, las mediciones se realizaron a incidencia normal. Las curvas mostradas son resultado de un promedio de los espectros tomados en 10 puntos



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

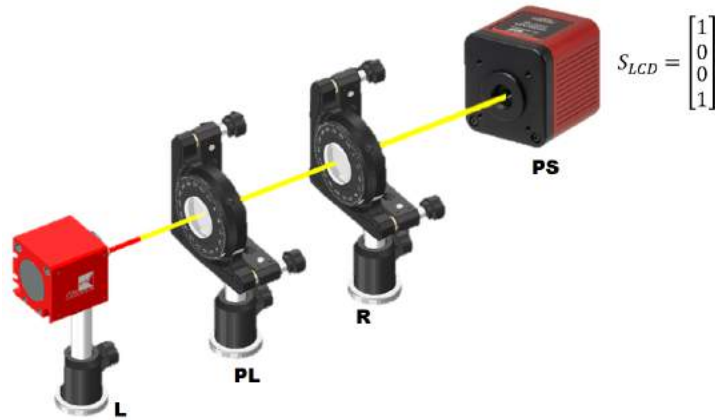


Figura 3.5: Diagrama esquemático para obtener luz polarizada con lateralidad derecha, L:láser a 633 nm, PL: polarizador lineal, R: placa retardadora de cuarto de longitud de onda y PS: polarímetro de Stokes.

diferentes de cada muestra, con la intención de dar un muestreo más confiable de la respuesta de transmitancia de las películas. En el caso de las mediciones con luz circular derecha, el polarizador circular se fabricó en el laboratorio con el apoyo de un polarímetro de Stokes comercial. Para esto se emplearon láminas polarizadoras lineales y retardadoras de cuarto de onda con la distribución que se muestra en la Figura 3.5, donde el polarizador lineal se ajustó su eje de transmisión a  $45^\circ$  y el eje principal del retardador se giró hasta obtener un vector de Stokes en el polarímetro lo más puro posible y cercano a  $[1 \ 0 \ 0 \ 1]^t$ . Para luz no polarizada, el mínimo de luz transmitida puede deberse a la absorción de radiación a longitudes de onda pequeñas, característico de este tipo de material o bien por el esparcimiento; mientras los picos mínimos de transmitancia con luz polarizada están ampliamente vinculados al tamaño del paso quiral de la estructura formada en las películas.

### 3.4. Difracción de Rayos X

La técnica de Difracción de Rayos X (DRX) se usa ampliamente para caracterizar estructuralmente materiales orgánicos e inorgánicos con conformación cristalina, semicristalina o amorfa. En este caso, se empleó el difractómetro Bruker D2 PHASER para evaluar la alineación de las películas fabricadas por la técnica EISA. Las condiciones bajo las cuales se realizaron las mediciones de los patrones de difracción se enlistan a continuación: voltaje de 30 KV, una corriente nominal de 10 mA, y un tubo de cobre (Cu) con 1,54184 Å. El intervalo de ángulos de difracción ( $2\theta$ ) considerados fue entre  $5^\circ$  y  $60^\circ$ , debido a la poca presencia de picos significativos y característicos de los nanocristales de celulosa en otros valores angulares de difracción.

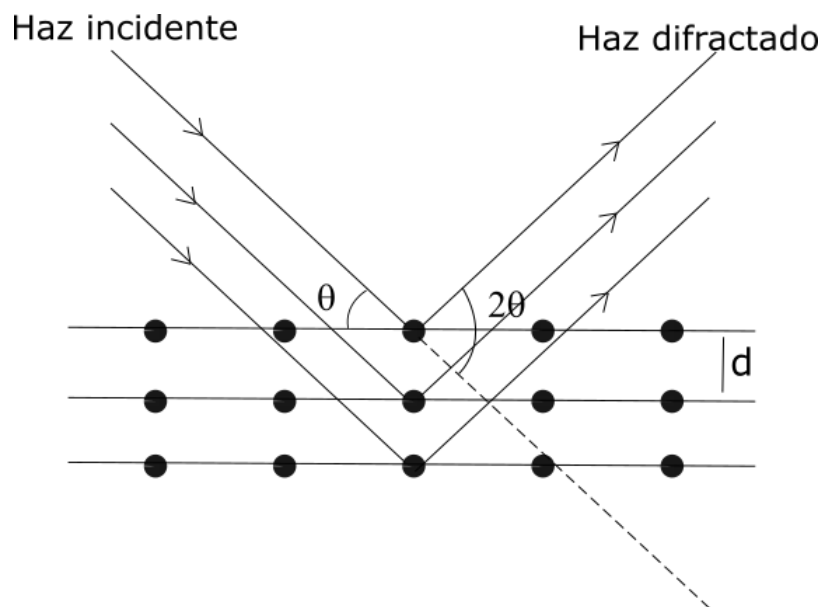


Figura 3.6: Esquema de la difracción de rayos X

## 3.5. Imágenes SEM de películas de CNC autoalineadas

Se obtuvieron muestras bajo la técnica EISA con grosores entre 50 y 100  $\mu\text{m}$ , según la concentración de partículas cristalinas de celulosa. Las secciones transversales de dichas películas fueron observadas bajo microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) empleando un microscopio de bajo vacío JEOL JCM-6000 utilizando un voltaje de aceleración de 10 kV. Bajo estas condiciones se realizaron diferentes ampliaciones para analizar las secciones transversales de las películas de CNC. Antes de realizar las micrografías, todas las muestras seleccionadas fueron sometidos a un proceso previo en el cual se sumergieron en nitrógeno líquido para una posterior fractura con navaja. Posteriormente, una capa superfina de Oro-Paladio (Au-Pd) fue depositada para evitar una carga eléctrica excesiva durante el proceso de obtención de imágenes microscópicas.

## 3.6. Polarímetro de imagen de matriz de Mueller

La Figura 3.7 [89] muestra el arreglo experimental implementado para la caracterización polarimétrica de las muestras fabricadas. Este montaje consiste en un polarímetro de imagen de matriz de Mueller en transmisión, el cual consta de una etapa generadora (PSG) y otra analizadora de estados de polarización (PSA). En ambas etapas se cuenta con polarizadores lineales fijos con eje de transmisión de forma horizontal y placas retardadoras de cuarto de onda acromáticas rotatorias, donde el ajuste del ángulo de orientación del eje rápido de cada placa de retardo y la adquisición digital de la distribución espacial de la intensidad de salida

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

se registran sincrónicamente a través de un programa en la unidad de control desde una computadora personal. La iluminación incidente es una fuente LED multilongitudes de onda, que asegura un haz colimado a la salida y además, la baja coherencia que presenta la iluminación LED reduce el efecto del fenómeno de speckle en las imágenes. La lente condensadora  $L_1$  enfoca el haz de luz sobre la muestra bajo pruebas, y el sistema de magnificación formado por el objetivo de microscopio de 60X y la lente ocular  $L_2$  permite analizar un área aproximada de  $70 \times 56 \mu\text{m}^2$ . La cámara CMOS, ubicada en la etapa analizadora, tiene una resolución de  $1280 \times 1024$ . La velocidad de adquisición de los fotogramas fueron optimizados para reducir la incertidumbre en el cálculo numérico de los coeficientes de la matriz de Mueller y además mantener bajo el coste computacional.

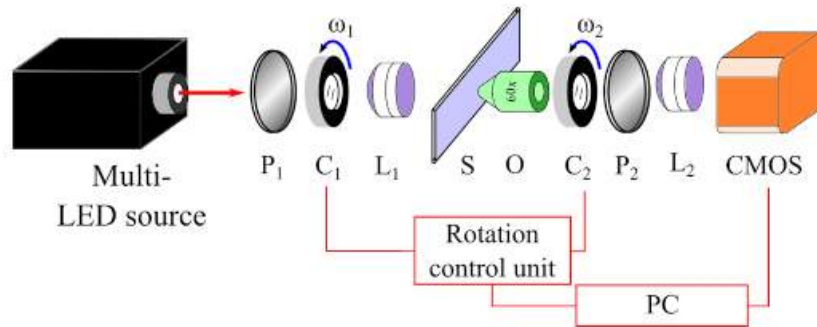


Figura 3.7: Diagrama esquemático del polarímetro de imagen de matriz de Mueller, donde  $P_i$  y  $C_i$  son polarizadores lineales y placas retardadoras de cuarto de onda, respectivamente.  $S$  es la muestra,  $O$  un objetivo de microscopio de 60 $\times$ ,  $L_1$  es una lente condensadora,  $L_2$  es una lente ocular, y  $PC$  es un ordenador personal.

## 3.7. Fluorescencia inducida con luz polarizada

Las películas de nanocristales de celulosa dispersos en solución de fluoresceína sódica alineadas con la técnica de inmersión fueron sometidas a pruebas para evaluar la factibilidad de emplear luz polarizada para inducir la fluorescencia. Recientemente, se ha estudiado películas de celulosa teñidas con FTIC como posibles sensores de pH. Conocer a fondo la interacción de estas hojas nanoestructuradas fluorescentes con la luz polarizada podría dar lugar a sensores ópticos mucho más sensibles y eficientes. En este trabajo se ha empleado un arreglo experimental que posibilita la colección de luz fluorescente no especular con dos tipos de luz de excitación: no polarizada y polarizada linealmente. La Figura 3.8 muestra el arreglo experimental empleado, para ello se utilizó una fuente de iluminación LED colimada a una longitud de onda central de 480 nm, un polarizador lineal Edmund Optics, un filtro dicroico de fluorescencia TECHSPEC entre la muestra y el detector para evitar las posibles reflexiones difusas del haz incidente (azul) sobre la muestra y como detector se empleó una fibra óptica acoplada a un espectrómetro Ocean Optics, que finalmente permite observar los espectros de la fluorescencia colectada.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

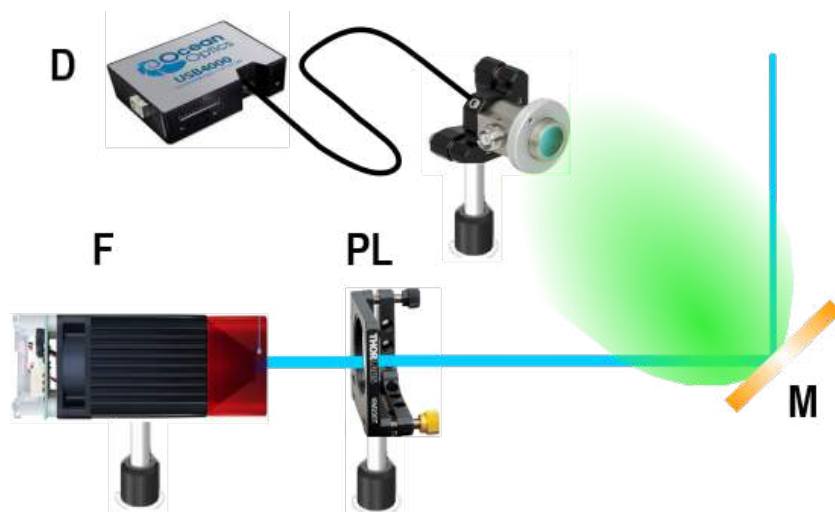


Figura 3.8: Diagrama esquemático para obtener los espectros de fluorescencia de las muestras alineadas, donde **F** es la fuente multilongitudinal de onda centrada a 480 nm, **PL** es un polarizador lineal, **M** es la muestra teñida y **D** es el detector formado por una fibra óptica acoplada a un espectrómetro Ocean Optics.

## Capítulo 4

# RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. Naturaleza “nano” de los cristales de celulosa

Las unidades de celulosa se aglomeran formando estructuras cristalinas con forma de varillas. Una manera de evidenciar la naturaleza nanométrica de las varillas de celulosa es empleando la microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés). En este caso, los CNC empleados fueron suministrados por el laboratorio de Nanografi Nano Technology, con una cristalinidad del 92 % y obtenidos a partir de la hidrólisis ácida con ácido sulfúrico de biomasa leñosa. La Figura 4.1 pone en evidencia varillas de celulosa con un diámetro promedio de 15 nm y una longitud comprendida entre 300 y 1000 nm.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

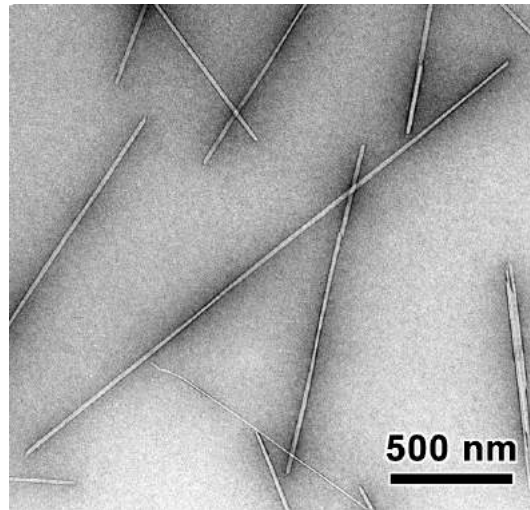


Figura 4.1: Imagen TEM de nanocristales de celulosa (Tomado bajo permiso de Nanografi Nano Technology, SKU: NG01NC0101, <https://nanografi.com/popular-products/cellulose-nanocrystal-nanocrystalline-cellulose-cnc>)

### 4.2. Espectroscopia UV-Vis

#### 4.2.1. Espectroscopia UV-Vis con luz no polarizada

Los espectros de transmitancia de las películas fabricadas por la técnica EISA, variando las condiciones de potencial hidrógeno y concentración de partículas de CNC, se obtuvieron de la forma descrita en la sección 3.3. Se evaluaron los efectos en la transparencia óptica de las películas con pH en el soluto al momento de la fabricación ajustados a 3, 7 y 9 y concentraciones de 3%wt (azul), 4%wt(rojo) y 5%wt(negro). La Figura 4.2 recoge un promedio de mediciones realizadas sobre cada una de las muestras en 10 áreas diferentes. Como puede observarse, en todos los casos, la transmitancia hacia las longitudes de onda



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

cortas ( $\approx 200$  nm) decrece de manera exponencial, y esto se debe en gran medida a una propiedad intrínseca de absorción de este tipo de material, por lo que usualmente es propuesto como protector de radiación ultravioleta.

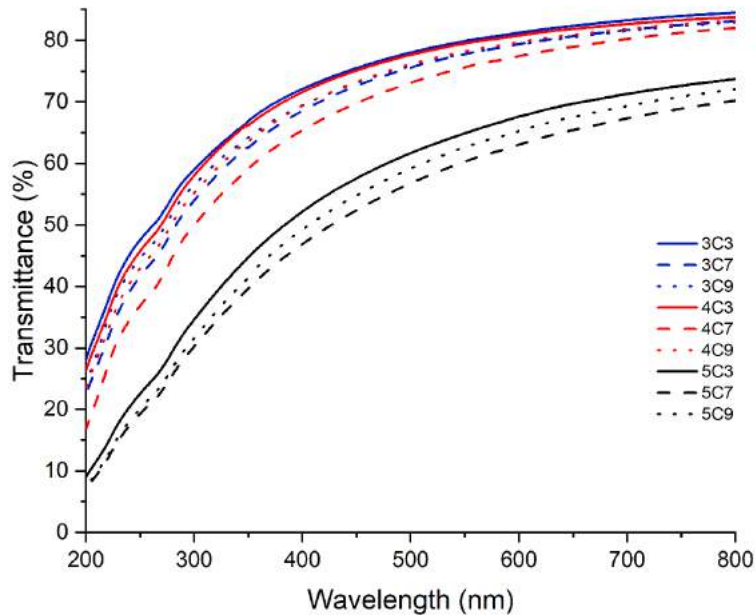


Figura 4.2: Espectros de transmisión con luz no polarizada de películas fabricadas por la técnica EISA con diferentes valores de pH y concentración de cristales. Tomado de [1]

### 4.2.2. Espectroscopia UV-Vis con luz polarizada circular

La espectroscopia UV-Vis empleando luz polarizada circular dextrógira como excitación a incidencia normal permitió confirmar la formación de estructuras helicoidales entre los CNC durante el proceso de estabilización y secado de las películas. Los mínimos de transmisión se dan a la longitud de onda que corresponde con el periodo quiral de las nanoestructuras y esto se muestra en la Figura 4.3. Como puede observarse, en todos los casos mostrados en los

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

espectros de las Figuras 4.3a, 4.3b y 4.3c, existen picos mínimos en dos regiones específicas alrededor de los 663 nm y los 470 nm. Evidentemente, para una mayor concentración de nanocristales, la transparencia del material se ve afectada nuevamente por el esparcimiento. De estos resultados obtenidos se puede inferir la formación de dos estructuras quirales de diferente tamaño, que pueden estar en contraste con el proceso de secado específicamente debido a que en un primer momento la solución en placas de Petri estuvieron en estabilización a muy alta humedad relativa, lo que provoca estructuras quirales con tamaños comparables con longitudes de ondas largas (parte roja del espectro); y posteriormente se secaron a humedad relativa media lo que supone periodos quirales más pequeños (parte azul del espectro).

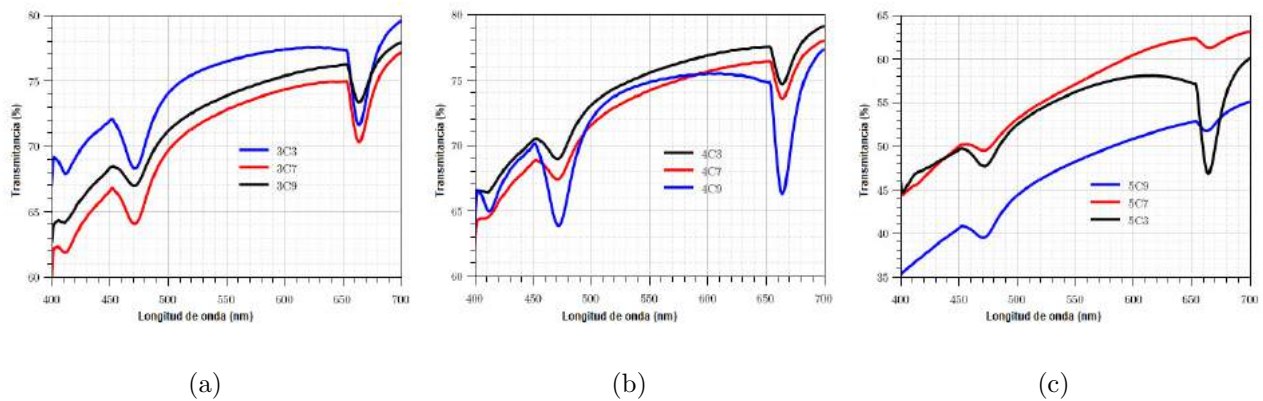


Figura 4.3: Espectros de transmisión con luz circularmente polarizada con lateralidad derecha de películas fabricadas por la técnica EISA, fabricadas con diferentes valores de pH y concentración de cristales. Tomado de [1]

Como puede observarse, los espectros de transmisión para las películas con menor concentración en peso de cristales mantiene la misma tendencia de mayor transmitancia a menor valor de pH, como se mostró en la Figura 4.2. Sin embargo, para las películas con el 5% wt

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

no se mantiene esta misma condición, lo cual puede deberse en gran medida a que se forman aglomerados en ciertas regiones que afectan la transmitancia.

### 4.3. Análisis cualitativo de la birrefringencia lineal

Un arreglo polarimétrico nulo resulta en una técnica simple para evaluar cualitativamente la birrefringencia lineal de un material dado. Este tipo de montaje experimental consiste en dos polarizadores lineales dispuestos en posición ortogonal, haciendo incidir sobre el primer polarizador un haz de luz blanca. La Figura 4.4 evidencia la intensidad transmitida de las películas prístinas de CNC (EISA) según la concentración del soluto, lo que supone que las muestras colocadas en medio de los polarizadores lineales modifica el estado de polarización de la luz en función de las variables en cuestión. En gran medida, este comportamiento puede derivarse de propiedades ópticas como la diatenuación, birrefringencia o la despolarización, esta última refleja el potencial de desorden estructural del material. Las Figuras 4.4d y 4.4h muestran las pruebas realizadas con los polarizadores dispuestos de forma ortogonal y paralela respectivamente. Se puede observar que las láminas de nanopapel de menor concentración 3C4 y 4C4, muestran menor birrefringencia lineal que la película a mayor concentración (5C4). Aunado a esto, las primeras hojas exhiben regiones oscuras en la distribución de intensidad sobre el objeto (Figuras 4.4a y 4.4b), lo que demuestra que las fases cristalino-líquidas isotropas y anisotropas coexisten después de secas. Debido a que no se observan imágenes notablemente borrosas, se pudiera, hasta el momento, descartar el efecto producido por el esparcimiento que

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

pueden producir aglomerados o microdominios cristalinos del material bajo estudio. Con los polarizadores dispuestos de forma paralela, las películas muestran imágenes complementarias a las primeras. En el caso de las películas fabricadas por la técnica de inmersión, también se

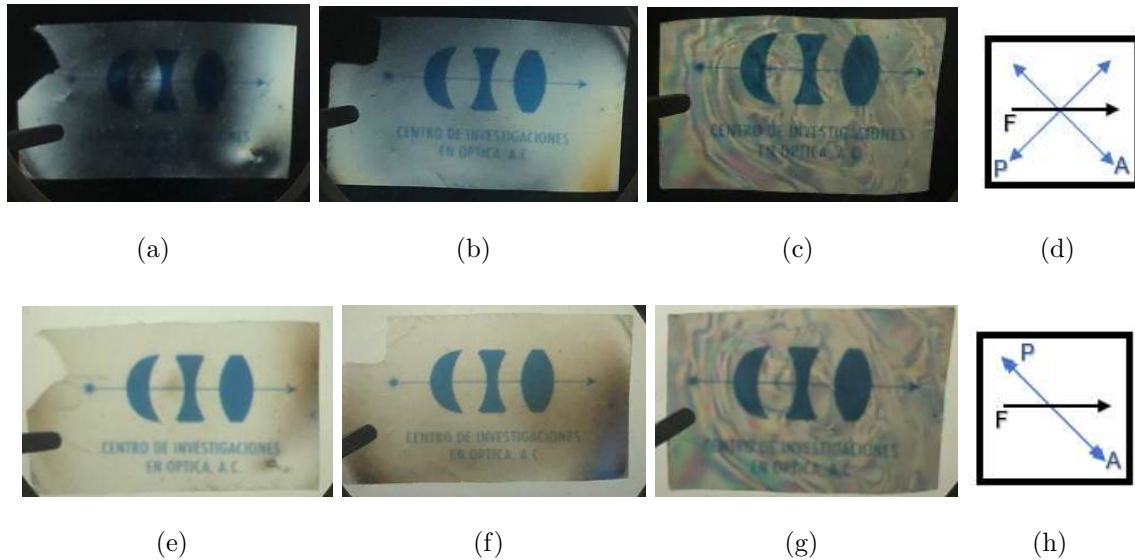


Figura 4.4: Imágenes de las películas a diferente concentración con el mismo valor de  $pH$ , orientadas horizontalmente entre una pantalla con polarización lineal a  $45^\circ$  y un polarizador cruzado a  $-45^\circ$  (imágenes superiores) y paralelos (imágenes inferiores): (a) 3C4, (b) 4C4, (c) 4C4, (d) 3C4, (e) 4C4, (f) 5C4. Tomado de [1]

evaluó su birrefringencia lineal a partir del arreglo polarimétrico antes mencionado.

## 4.4. Difracción de rayos X

Una herramienta bien conocida para el estudio del grado de cristalinidad y orden de un material es la difracción de rayos X (XRD, por sus siglas en inglés). Esta técnica se fundamenta en el fenómeno de interferencia que experimentan las ondas de rayos X al ser difractadas por planos cristalinos paralelos de la muestra. De esta forma, se genera un patrón de difracción que está condicionado por el tamaño de la estructura cristalina del material analizado.

En este caso se han evaluado las películas EISA mediante esta técnica para cuantificar la estructura presente en estas nanohojas fabricadas. En la Figura 4.5 se observan los patrones de difracción de las muestras bajo estudio, esta vez se escogieron a diferente concentración de cristales de celulosa y mismo valor de pH. Obsérvese en la figura antes mencionada, donde las intensidades de difracción están normalizadas, que se obtienen picos de difracción alrededor de los  $15.5^\circ$ ,  $22.8^\circ$  y  $34.5^\circ$ . Estos valores concuerdan con los reportados por Wada et al. [44] para la celulosa con fase monoclinica. A partir del plano de difracción (200) cuyo pico está aproximadamente en  $2\theta = 22.8^\circ$  se realizó el cálculo del parámetro de orden de Hermans,  $S$ , para cada película, utilizando la ecuación

$$S = \frac{1}{2} (3\langle \cos^2 \phi \rangle - 1), \quad (4.1)$$

donde

$$\langle \cos^2 \phi \rangle = \frac{\int I(\phi) \cos^2 \phi \sin \phi \, d\phi}{\int I(\phi) \sin \phi \, d\phi} \quad (4.2)$$

siendo  $\phi$  y  $I(\phi)$  el ángulo azimutal con respecto al eje rápido de la orientación de la birrefringencia lineal y la intensidad difractada en el plano (200) respectivamente. Este parámetro da

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

una medida del grado de alineación que presentan los cristales en la película.

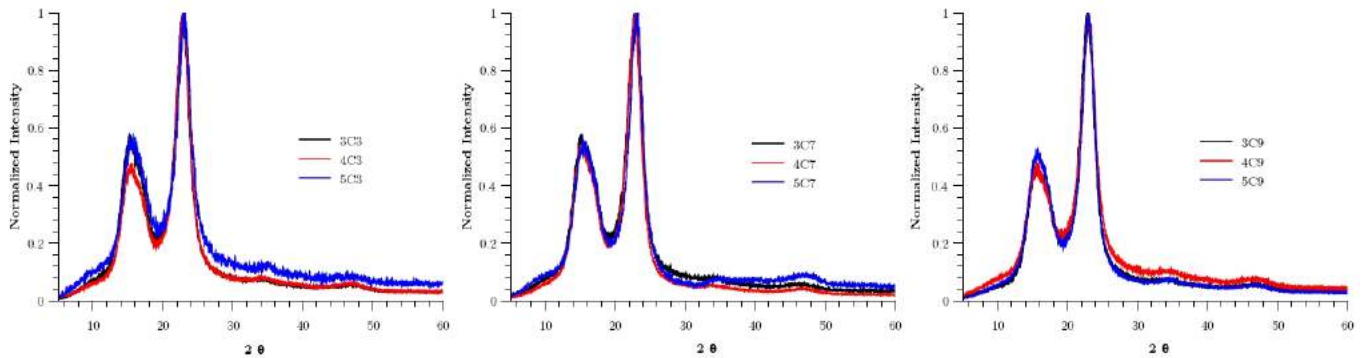


Figura 4.5: Difractograma de películas variando la concentración de CNC y el pH del solvente.

Tomado de [1]

La Tabla 4.1 recoge los resultados obtenidos a partir del parámetro  $S$ , el cual está vinculado con la birrefringencia lineal que muestran las películas EISA. Como puede observarse en dicha

wt % / pH	3	7	9
3	0.1972	0.1826	0.2064
4	0.2074	0.1695	0.2352
5	0.2451	0.2353	0.2345

Cuadro 4.1: Parámetro de orden Hermans para diferentes películas EISA. Tomado de [1]

tabla, las películas presentan cierto grado de orientación. Si bien, el parámetro  $S$  es diferente de cero para todas las muestras bajo estudio, también es notable que los valores más bajos de orientación se obtienen para pH neutro ( $pH = 7$ ), lo que se correlaciona con los resultados obtenidos mediante polarimetría de Mueller.

### 4.5. Imágenes SEM

Ha sido reportado la formación de estructuras quirales en películas de nanocristales de celulosa de forma autónoma mediante la técnica EISA. El periodo quiral de estas estructuras, que como se ha mencionado anteriormente, resulta en la longitud de onda reflejada cuando se hace incidir luz circular izquierda, puede ser observado en su sección transversal mediante microscopia electrónica de barrido. La Figura 4.6 muestra la sección transversal de 9 muestras (3C3, 3C7, 3C9, 4C3, 4C7, 4C9, 5C3, 5C7 y 5C9), en la cual se puede observar una estructura laminar en todos los casos, independientemente de la concentración y el pH de cada una de las muestras bajo estudio. A pesar de que la resolución necesaria para obtener las imágenes SEM típicas de la estructura quiral solo se lograron para las muestras 4C9 y 5C3 (mostrados en Figura 4.6f y 4.6g), los resultados obtenidos permiten establecer una discusión. Si se consideran las muestras a igual concentración, se puede observar una ligera diferencia estructural según el pH de la solución CNC más ácida (pH=3) y más alcalina (pH=9). Las capas que definen el paso quiral están más definidas para las películas 4C9 (Figura 4.6f) y para todas las de 5%wt (Figuras 4.6g-4.6i). El tamaño del paso quiral en las películas con pH ácido es en una pequeña medida diferente al correspondiente a pH neutro y básico. Este comportamiento puede entrelazarse con la respuesta obtenida en los espectros de transmisión, donde las láminas con pH neutro-básico tienen menor transmitancia que los de pH ácidos. Por otro lado, la comparación entre las estructuras estratificadas obtenidas con diferente concentración de solución al mismo valor de pH (Figuras 4.6a, 4.6d y 4.6g) muestran un aumento del espesor de capa, lo que implica un mayor efecto iridiscente en las láminas de CNC preparadas

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

con mayor concentración. La estructura transversal de capas retorcidas define ciclos quirales

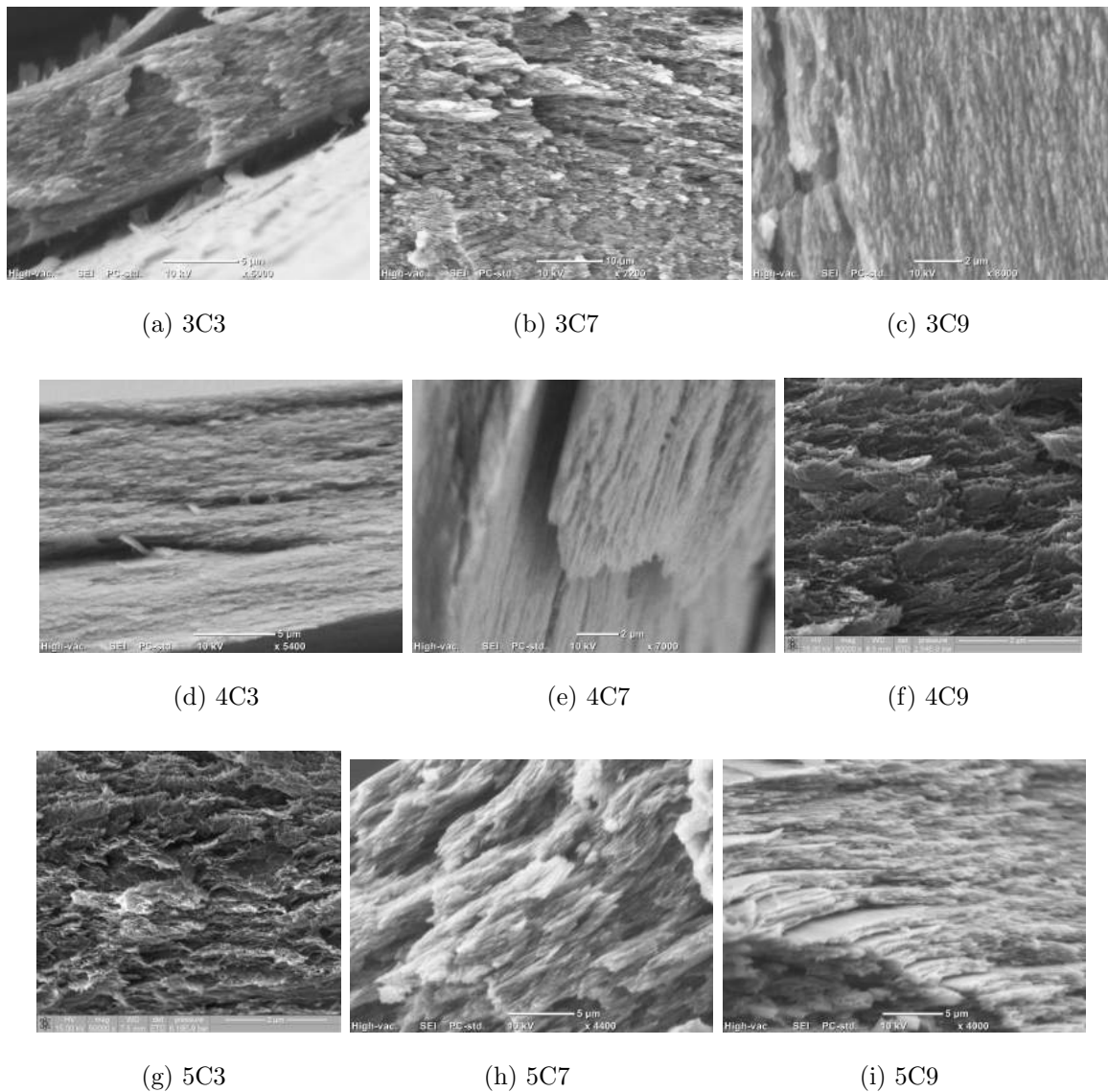


Figura 4.6: Sección transversal de las películas de nanocristales de celulosa a diferentes valores de concentración y pH.

completos, es decir,  $360^\circ$  vueltas del director en bloques de nanocristales nemáticos quirales alineados. A partir de las imágenes obtenidas, pueden distinguirse un periodo de estructura



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

del orden de cientos de nanómetros en la muestra al 3 %wt y aumenta con el incremento de la concentración de CNC, como se describe en [106].

### 4.6. Polarimetría de imagen de Matriz de Mueller

Las películas de CNC, tanto las fabricadas por la técnica EISA y por inmersión, fueron evaluadas por la técnica de polarimetría de imagen de Matriz de Mueller a escala microscópica. Para esto se emplearon dos longitudes de ondas específicas, 465 nm y 635 nm. Estas componentes espectrales fueron escogidas debido a que la primera es un valor aproximado a las frecuencias de resonancia típica de las estructuras quirales de este tipo de muestras y la segunda coincide con el intervalo espectral donde las películas muestran la menor absorbancia y dispersión. Aunado a esto, ambos periodos quirales medidos por espectrometría UV-Vis coinciden con estos valores dentro de la parte azul y rojo del espectro. Las Figuras 4.7 y 4.8 muestran las matrices de Mueller completas de la muestra 5C9 para ambas longitudes de onda de estudio, obtenidas mediante el análisis de Fourier descrito en la Sección 2.7.1.

Como puede observarse, en ambos casos y basándonos en la escala de colores que va de -1(color azul) a 1(color rojo), las imágenes que brindan la información referente a polarizancia y diatenuancia que se agrupan en la primera fila y columna de cada MM completa, son muy cercanos a cero(color verde). Si se realiza un promedio sobre las imágenes implicadas, los valores numéricos son efectivamente aproximadamente cero. La ecuación 4.3 muestra la MM completa para la muestra 5C9 a 465 nm derivada de la Figura 4.7, donde se corrobora lo antes

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

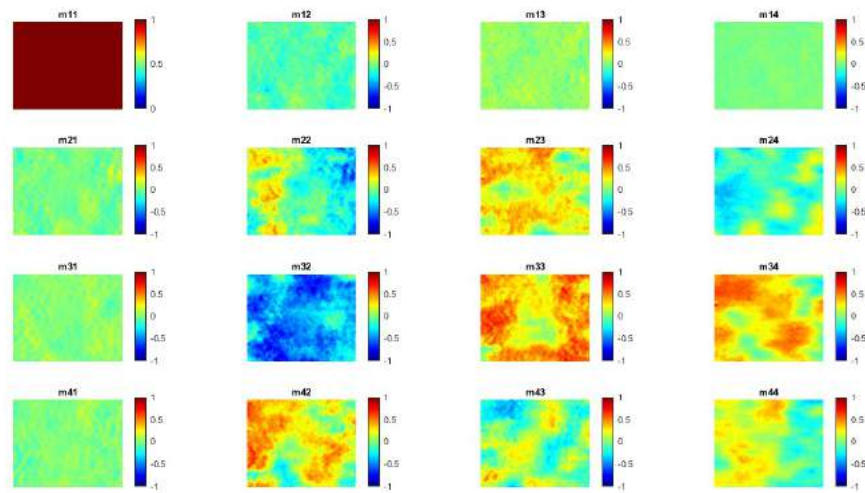


Figura 4.7: Matriz de Mueller completa para la muestra 5C9 a 465 nm

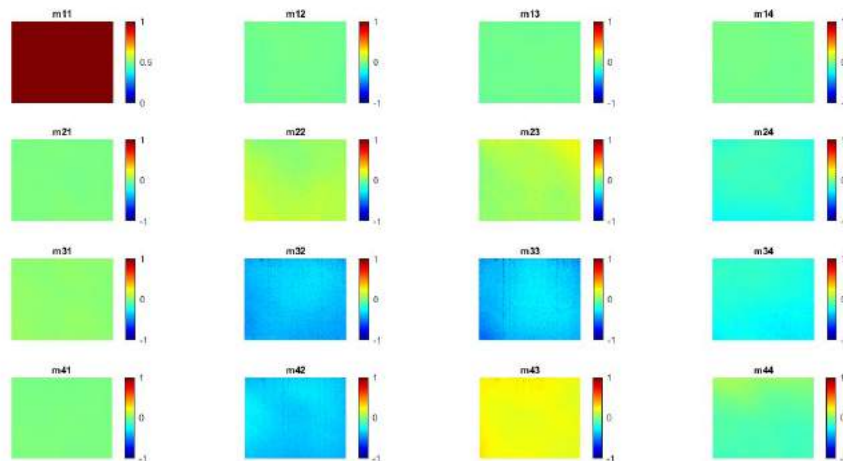


Figura 4.8: Matriz de Mueller completa para la muestra 5C9 a 635 nm

expuesto. Por esta razón se procesaron solo las matrices reducidas de Mueller donde solo se contemplan los elementos  $m_{22}$ ,  $m_{23}$ ,  $m_{24}$ ,  $m_{32}$ ,  $m_{33}$ ,  $m_{34}$ ,  $m_{42}$ ,  $m_{43}$  y  $m_{44}$ ; los cuales contienen la información referente a retardancia lineal y circular de las muestras. Si se observan ambas

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

MM completas, a las dos longitudes de onda de estudio (465 nm y 635 nm), la primera matriz experimenta menor homogeneidad (observable a partir de la distribución de color en los elementos  $m_{ij}$  de la matriz reducida) que la segunda, y esto se debe en gran medida a que en el intervalo más bajo del espectro este material experimenta mayor esparcimiento y la interacción de las moléculas con este tipo de radiación es más fuerte que con longitudes de ondas en el intervalo de 635 nm. Si se hace un promedio sobre cada imagen de los coeficientes ( $m_{ij}$ ) de la MM completa, se obtiene la siguiente matriz numérica (ver ecuación 4.3):

$$M_{mean5C9} = \begin{bmatrix} 1,0000 & -0,0567 & 0,0255 & -0,0066 \\ -0,0100 & -0,0413 & 0,1500 & -0,0698 \\ 0,0110 & -0,2831 & 0,2329 & 0,1766 \\ -0,0004 & 0,1428 & -0,0045 & 0,0490 \end{bmatrix} \quad (4.3)$$

En consecuencia, los coeficientes  $m_{11}$ ,  $m_{12}$ ,  $m_{13}$ ,  $m_{14}$ ,  $m_{21}$ ,  $m_{31}$ ,  $m_{41}$  fueron eliminados para cada uno de los análisis y se rescató solo los que brindan mayor información del comportamiento estructural, quedando así, solo las MM reducidas de  $3 \times 3$  con los elementos  $m_{22}$ ,  $m_{23}$ ,  $m_{24}$ ,  $m_{32}$ ,  $m_{33}$ ,  $m_{34}$ ,  $m_{42}$ ,  $m_{43}$  y  $m_{44}$ . Para mostrar con más detalle, la Figura 4.9 expone las imágenes de los 9 elementos  $m_{ij}$  de la matriz reducida para la muestra 5C9 específicamente.

### 4.6.1. Descomposición Lu-Chipman

Basado en el procedimiento descrito en la Sección 2.7.1, donde se aplica el método de descomposición polar a la matriz de Mueller completa, se obtiene una matriz de descomposición de  $3 \times 3$ . Dicha matriz de descomposición describe las anisotropías fundamentales relativas a dia-

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

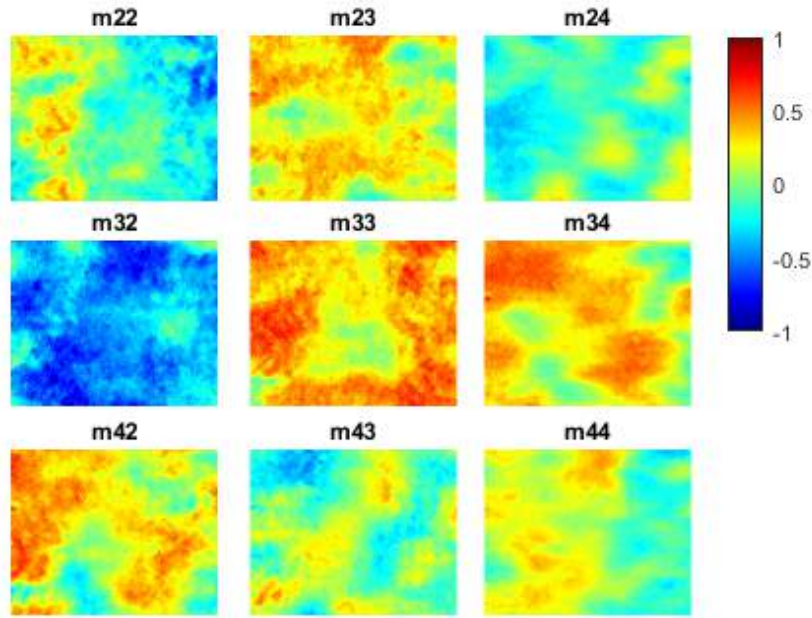


Figura 4.9: Matriz de Mueller reducida para la muestra 5C9 a 465 nm

tenuancia, depolarizancia (medibles en escala de 0-1) y retardancia (escala de  $0-\pi$  radianes), organizadas en filas de arriba hacia abajo respectivamente, como se muestra en la Figura 4.10. Los elementos de cada matriz de descomposición están separados en sus parámetros anisótropos, total, lineal y circular. La Figura 4.10 evidencia lo expuesto anteriormente sobre la diatenuancia y depolarizancia de las muestras. Este procedimiento se repite para cada una de las hojas de nanocelulosa fabricadas. En el Apéndice A se exponen todas las matrices obtenidas para cada muestra. Derivado de esto, para el posterior estudio, solo se consideraron las distribuciones espaciales de la retardancia lineal ( $\delta$ ) y circular de las hojas o películas ( $\psi$ ), calculadas a partir de las ecuaciones expuestas en la Sección 2.7.1 y los coeficientes  $m_{ij}$  de la MM que les corresponde. Si se amplifica la imagen que muestra la distribución espacial de las retardancias lineal y circular de la muestra 5C9 (ver Figura 4.11), se puede determinar que

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

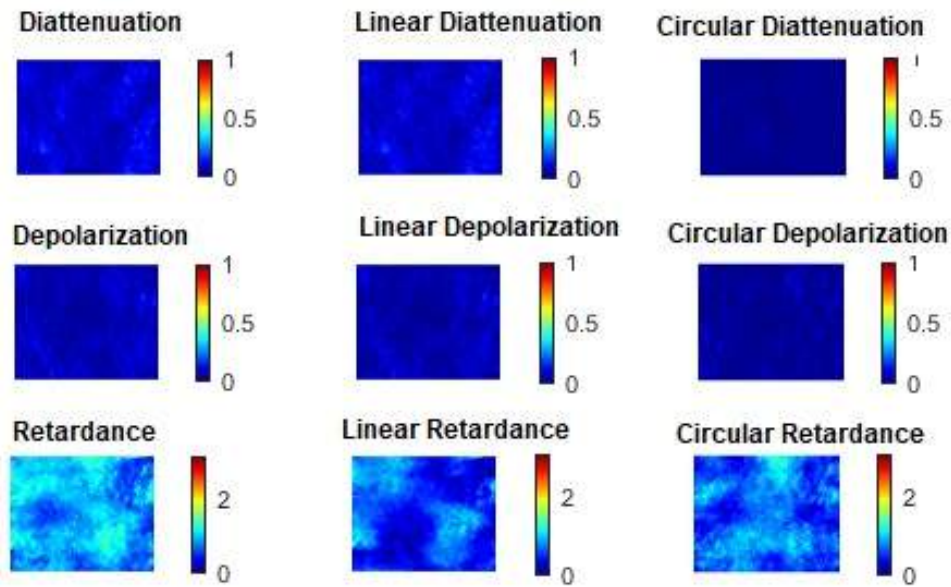


Figura 4.10: Matriz derivada de la descomposición polar a la matriz de Mueller para la muestra 5C9 a 465 nm

la birrefringencia circular para la longitud de onda de 465 nm es dominante sobre la lineal. Esto último se deriva a que la birrefringencia circular ocupa una superficie mayor sobre la región estudiada y los valores de birrefringencia son de mayor magnitud que la birrefringencia lineal. De modo general, si se observa la escala de colores para las imágenes de retardancias que va de 0 (azul) a  $\pi$  (rojo) radianes para todas las películas, de forma cualitativa, los valores de retardancia están por debajo de  $\pi/2$  radianes, que corresponde al color verde de la escala empleada (cuestión que se verá a detalle más adelante). Otra cuestión que puede ser resaltada en este estudio es que existe la tendencia a no traslaparse las regiones de retardancia lineal y circular. Este fenómeno se debe a que en ciertas regiones de las películas pueden darse las condiciones físicas para que las moléculas se organicen de forma quiral y en otras de forma nemática debido a las condiciones no homogéneas de los aglomerados, sobre todo el material.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

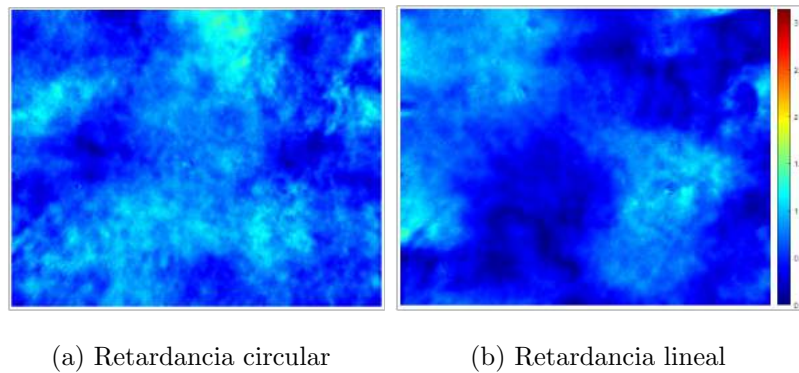


Figura 4.11: Birrefringencia de la muestra 5C9 a 465 nm.

Para fines prácticos de materiales que alcanzan una birrefringencia lineal significativa como para cambiar el estado de polarización de la luz y ser propuestos para el diseño y desarrollo de elementos ópticos polarizantes como placas retardadoras, rotadores, etc., conocer la orientación de su eje rápido es de suma importancia. En este sentido es necesario identificar si el eje rápido está distribuido de forma homogénea, significa que el elemento óptico que se proponga va a funcionar sobre toda su sección transversal como una placa retardadora homogénea. Sin embargo, si el eje rápido depende de la posición, el material tendrá un comportamiento depolarizante. Es por esto que se obtuvo la orientación por píxeles de la birrefringencia según se describe en la Ecuación 2.21. La Figura 4.12 muestra que la orientación del eje rápido es homogénea en todas las zonas donde existe birrefringencia lineal. Este análisis se realizó para todo el conjunto de muestras y se observó un comportamiento similar.

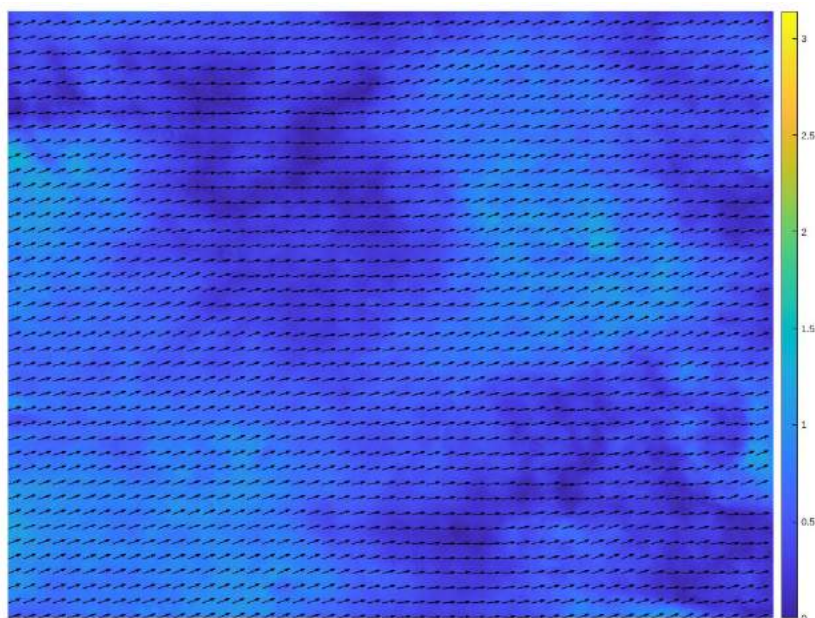


Figura 4.12: Eje rápido por píxel de la birrefringencia lineal en película 5C9

### 4.6.2. Análisis cuantitativo de las anisotropías

Para encontrar los valores promedios de retardancia lineal y circular que exhiben cada una de las muestras se siguió un procedimiento como sigue. Inicialmente, se tomaron las medidas de intensidad de 10 posiciones diferentes sobre una muestra, para esto se obtuvo una matriz de MM por posición específica. Seguidamente, se realizó un promedio entre las 10 matrices de Mueller, resultando una matriz de MM promedio, a partir de la cual se obtuvieron las anisotropías de cada muestra (retardancia lineal y circular). Finalmente, se encontraron los promedios sobre cada imagen de anisotropía resultante y su desviación estándar como se muestran en las Figuras 4.13 y 4.14. Para esto, se tomaron en cuenta todos los ajustes de concentración y pH que se lograron en las películas y se trazaron las curvas de retardos para cada longitud de onda de estudio. Como se ha mencionado anteriormente en este trabajo,



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

son varios los factores que pueden afectar la formación o no de fases de cristal líquido en películas de monocristales autoensamblados; y es precisamente el pH uno de los agentes que más repercute en la fabricación de nanopapel estructurado.

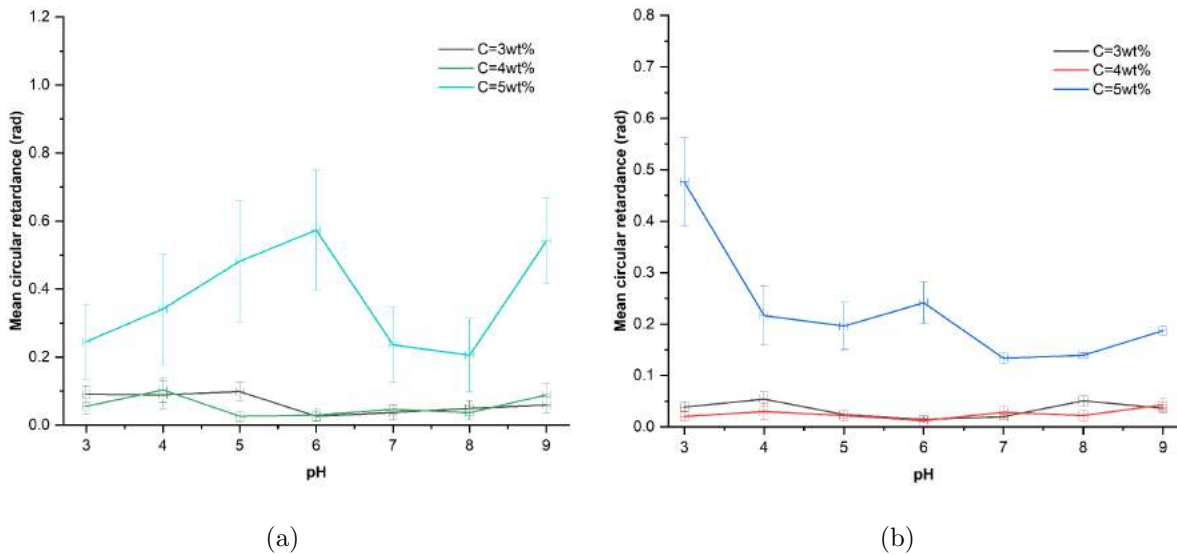


Figura 4.13: Propiedades de birrefringencia circular media de las láminas CNC evaluadas a 465 nm (4.13a), y 635 nm (4.13b)

En este estudio se muestra como el efecto de agregar agentes modificadores de pH es un factor que interfiere en la formación de estructuras quirales, como se muestra en la Figura 4.13a para la concentración constante de 5 %wt. Si se observa la Figura 4.13a, el mayor valor de retardo circular se obtuvo a un pH del disolvente casi neutro y la mínima para pH ligeramente básico (pH=8), con una tendencia al aumento a pH=9. Sin embargo, para concentraciones más bajas (3 %wt y 4 %wt), esta propiedad derivada de la estructura quiral es prácticamente nula, con valores oscilantes entre 0 y 0.05 radianes. Esta respuesta se repite cuando se realiza el análisis



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

polarimétrico para la longitud de onda de 635 nm. Por otro lado, se puede constatar en la Figura 4.13b, para mayor concentración de cristales (curva azul), las medidas de retardancia circular realizadas en la longitud de onda roja fueron ligeramente inferior a las obtenidas para la longitud de onda azul. Sin embargo, el comportamiento que experimentan estas muestras a la segunda longitud de onda (635 nm), es similar; debido a que se obtiene un pico de máxima retardancia circular también a  $\text{pH}=6$ . A pesar de esto, el valor máximo de retardancia para las muestras con concentración de 5%wt es para el  $\text{pH}=3$ . Esto da una idea de que se forman estructuras quirales de mayor paso para ambientes ácidos del soluto, específicamente a  $\text{pH}=3$ . Estos cambios estructurales se deben a la fuerza iónica e interacción electrostática entre las varillas de nanocristales de celulosa y los agentes agregados para controlar el pH del disolvente. La dispersión estadística de los datos obtenidos, proporcionada por las barras de dispersión de los valores de anisotropía para cada uno de los casos analizados, es notablemente mayor para la longitud de onda de 465 nm, dado que en este intervalo espectral, los efectos de dispersión en las medidas de polarización son más fuertes. Hasta el momento no se han reportado trabajos donde se considere la coexistencia de la birrefringencia lineal con la birrefringencia circular en las películas fabricadas con CNC mediante la técnica EISA. En este trabajo, no solo se ha evaluado esta propiedad de forma cualitativa, sino también cuantitativamente. Para esto, se empleó un universo de muestras similar al empleado en el caso anterior. En general, esta propiedad anisótropa no es despreciable en las muestras de CNC analizadas, ya que los valores de retardancia lineal, especialmente en las películas con 5%wt de CNC van de 0.4-1.0 radianes en 465nm y de 0.2-0.55 radianes en 635nm. Para la longitud de onda azul, Figura 4.14a, la birrefringencia lineal de las películas con menor

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

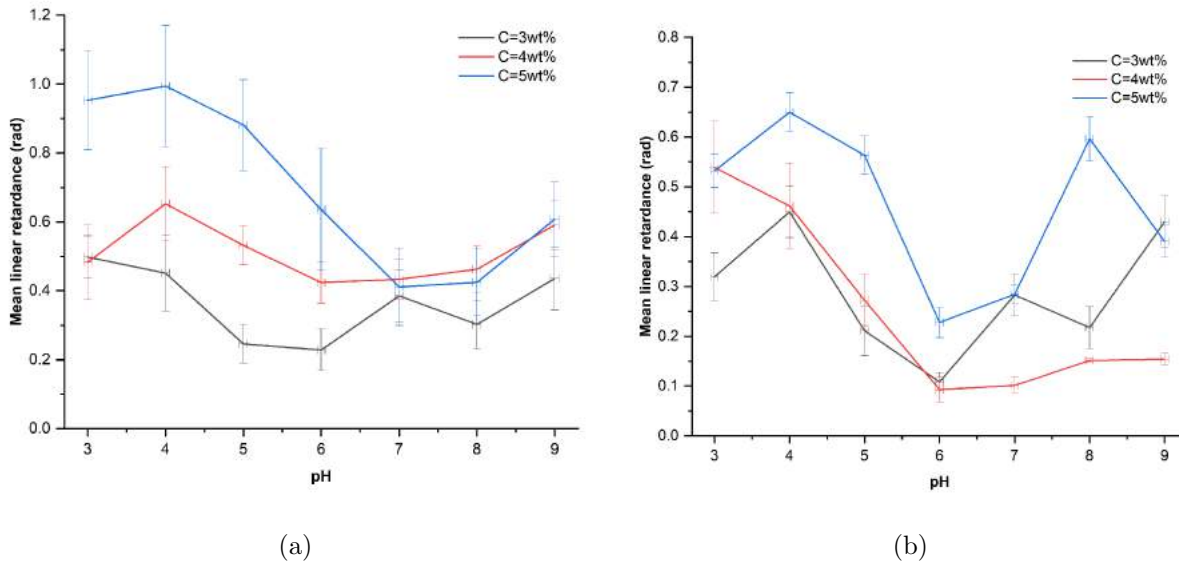


Figura 4.14: Birrefringencia lineal de las películas de CNC evaluadas a 465 nm (4.14a), y 635 nm (4.14b)

concentración de CNC es casi independiente del valor de pH del disolvente. Sin embargo, para películas con CNC al 5%wt, el máximo retardo se da en condiciones de disolvente ácido, disminuyendo hasta alcanzar un mínimo alrededor del pH neutro. Por otro lado, la retardancia lineal a longitudes de onda más largas es mínima en condiciones neutras para todas las muestras analizadas. En trabajos anteriores, se ha descrito la estructura lineal como una consecuencia de la velocidad de evaporación del solvente, a lo largo del borde de la gota de CNC, lo que provoca un cizallamiento inducido [107]. Sin embargo, en nuestras muestras se han despreciado los bordes y solo se han analizado las secciones centrales de las películas donde el espesor es considerablemente homogéneo. En consecuencia, se forman estructuras nemáticas alineadas asociadas con birrefringencia lineal debido a que los agentes de pH reducen la interacción de fuerza iónica entre los nanocristales de celulosa.

### 4.7. Efecto iridiscente en películas EISA

La Figura 4.15 muestra el análisis macroscópico de la iridiscencia de la película 3C7. Sin embargo, este comportamiento se mantiene para todas las muestras con 3 %wt y 4 %wt, donde a incidencia normal, el color estructural experimentado no coincide con las longitudes de onda del espectro visible. El rendimiento de iridiscencia de estas películas a incidencia normal puede deberse al tratamiento de estabilización inicial que se les dio a altos niveles de humedad durante un periodo de tiempo. Se ha reportado que cuando las películas se secan a altos niveles de humedad, el periodo quiral tiende hacia el infrarrojo cercano. Como puede apreciarse, al aumentar el ángulo de incidencia se produce un desplazamiento desde el intervalo de longitudes de onda largas hacia las más cortas debido al efecto de interferencia y resonancia de la luz visible con el periodo quiral efectivo de las muestras. La luz transmitida fuera del espectro visible se mantiene hasta los 22.5 grados. Justo en este punto, existe una transmisión de luz prácticamente blanca (transmisión de todas las longitudes de onda del espectro visible) hasta los 30 grados. Anexo a este trabajo se encuentran las imágenes de iridiscencia para todas las muestras. Posteriormente, a 45 grados, la transmisión de la luz es selectiva hacia la parte roja del espectro y, por último, a un ángulo de incidencia de 60 grados, la iridiscencia experimenta un desplazamiento hipsocrómico hacia el azul. La coloración mostrada por las hojas no es perfectamente homogénea y tiende a variar en función del pH y de la concentración de las películas producidas. Estas imágenes corroboran la dependencia angular de la luz transmitida dada la estructura quiral de las películas.

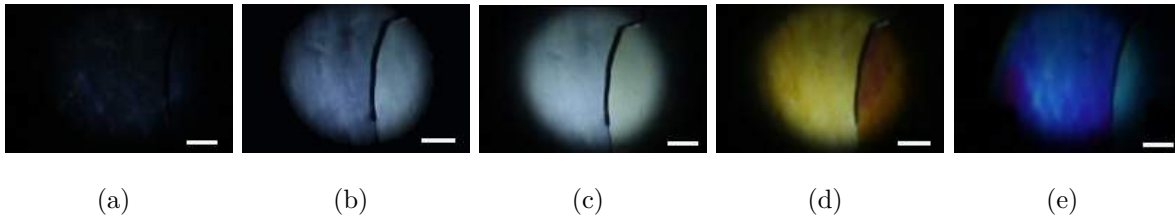


Figura 4.15: Efecto iridiscente de la película 3C7 a diferentes ángulos de incidencia entre estados de polarización circulares ortogonales: (a) incidencia normal, (b)  $22,5^\circ$ , (c)  $30^\circ$ , (d)  $45^\circ$ , y (e)  $60^\circ$

### 4.8. Análisis polarimétrico de películas con alineación forzada

Al observar que la estructura final de las películas de nanocelulosa cristalina fabricadas mediante EISA no es homogénea, lo cual afectaría al proceso de emisión de fluorescencia polarizada, se recurrió al método de alineación forzada. Este método fue elegido por su simplicidad y acceso a los elementos para implementarla. Mediante la técnica de inmersión, se pretendió forzar la orientación de los cristales de forma paralela a la dirección de inmersión. Se fabricaron películas de CNC a diferentes velocidades como se mencionó anteriormente, sin embargo, los mejores resultados se obtuvieron a velocidades de inmersión de  $330 \mu\text{m/s}$  y  $50 \text{ mm/s}$ , con una y dos capas. Mediante la caracterización polarimétrica se evidenció que la estructura formada por esta técnica refleja una birrefringencia lineal bien marcada. Por otro lado, al ser la celulosa altamente hidrofílica, al tratar de montar más capas sobre un mismo sustrato, la homogeneidad del material se ve afectada, como puede observarse en la Figura

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

4.18 .

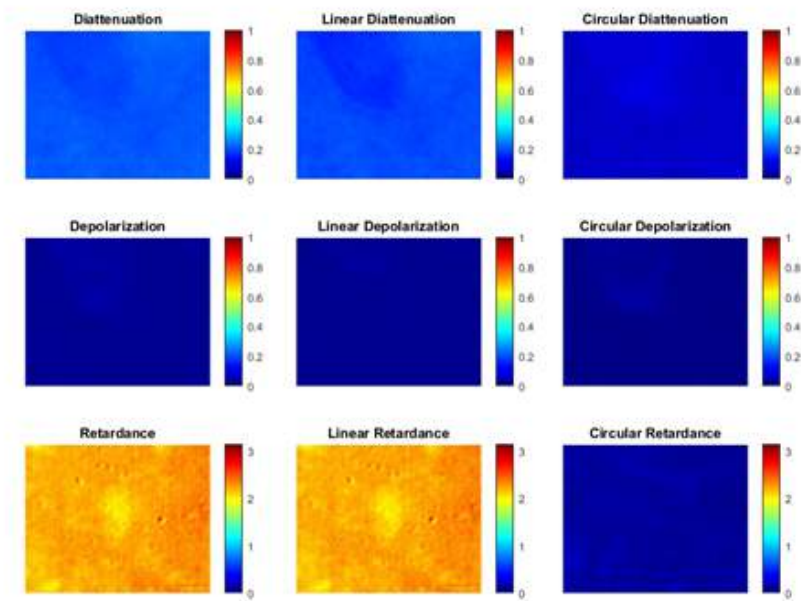


Figura 4.16: Matriz derivada de la descomposición polar a la matriz de Mueller para la muestra por inmersión a velocidad de 4.13 mm/s y 1 capa.

Realizando el mismo procedimiento de la descomposición polar descrita anteriormente para las películas autoensambladas, las matrices desenvueltas exhiben nuevamente despolarización y diatenuación casi nulas, como puede apreciarse en las Figuras 4.16- 4.18. De este mismo modo, la estructura quiral en estas películas no alcanza a ser significativa. En contraste, la orientación que alcanzan los CNC con la técnica de inmersión evidencia una retardancia lineal bien marcada a 330  $\mu\text{m/s}$  como muestra la Figura 4.17.

Al igual que en el análisis polarimétrico de la sección 4.6.2, se realizó un promedio sobre las imágenes obtenidas en 10 posiciones específicas de las muestras, de las cuales se obtuvieron los datos de dispersión estándar recogidos en las Tablas 4.2 y 4.3 recogen los resultados

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

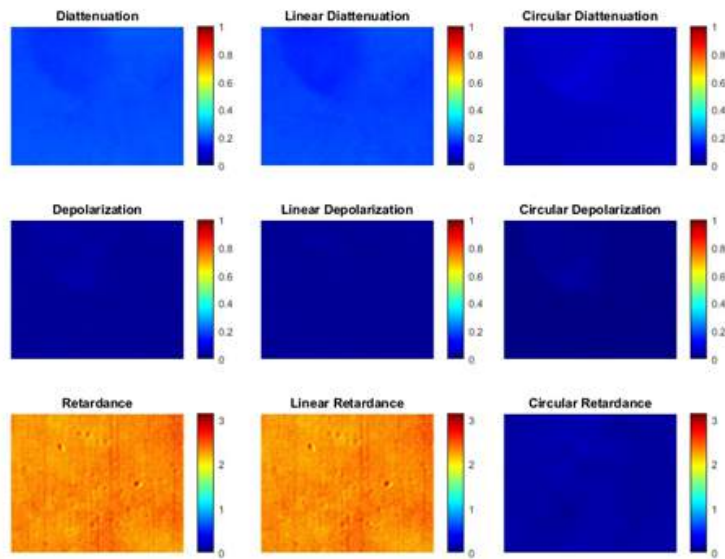


Figura 4.17: Matriz derivada de la descomposición polar a la matriz de Mueller para la muestra por inmersión a velocidad de  $330 \mu\text{m/s}$  y 1 capa.

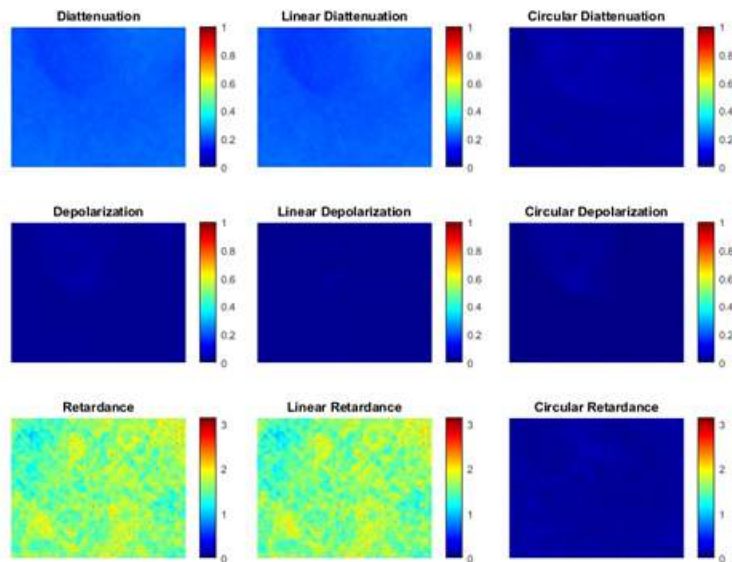


Figura 4.18: Matriz derivada de la descomposición polar a la matriz de Mueller para la muestra por inmersión a velocidad de  $330 \mu\text{m/s}$  y 2 capas.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

obtenidos a partir de estas tres muestras.

Velocidad	N° Capas	DL	DC	DespL	DespC
4.13 mm/s	1	$0.1905 \pm 0.0033$	$0.0746 \pm 0.0034$	$0.0149 \pm 0.0009$	$0.0095 \pm 0.0001$
330 $\mu\text{m/s}$	1	$0.1823 \pm 0.009$	$0.0623 \pm 0.007$	$0.0201 \pm 0.0008$	$0.0084 \pm 0.0001$
330 $\mu\text{m/s}$	2	$0.2085 \pm 0.016$	$0.0333 \pm 0.021$	$0.0153 \pm 0.006$	$0.0103 \pm 0.0011$

Cuadro 4.2: Tabla resumen de anisotropías en películas fabricadas por inmersión, diatenuación circular (DC) y lineal (DL); y despolarización lineal (DespL) y circular (DespC).

Velocidad	N° Capas	RL (rad)	RC (rad)
4.13 mm/s	1	$2.3113 \pm 0.0154$	$0.0816 \pm 0.0021$
330 $\mu\text{m/s}$	1	$2.3136 \pm 0.0035$	$0.1047 \pm 1.04 \times 10^{-3}$
330 $\mu\text{m/s}$	2	$1.5825 \pm 0.0519$	$0.0869 \pm 0.00381$

Cuadro 4.3: Tabla resumen de anisotropías en películas fabricadas por inmersión, retardancia lineal (RL) y circular (RC).

### 4.9. Fluorescencia inducida por luz linealmente polarizada

Con la intención de emplear en la propuesta de soporte de sensado, películas de CNC con propiedades más homogéneas, se eligió el método de fabricación de nanopapel por medio

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

de inmersión a una sola capa. Seguido de esto se obtuvieron películas fluorescentes a base de sal de fluoresceína sódica. Inicialmente, se prepararon soluciones del fluoróforo a una concentración de 0,05 mg/L en diferentes condiciones de pH del solvente en el intervalo comprendido entre 2.9 y 10.2. Como puede observarse en la Figura 4.19a, efectivamente este fluoróforo es sensible a variaciones de potencial hidrógeno, obteniendo un máximo de absorbancia hacia el pH más básico con un pico en la longitud de onda de 490 nm para  $pH > 6$ . De esta misma manera, se midieron los espectros de emisión de las soluciones como se muestra en la Figura 4.19b, resultando un pico máximo de emisión en 516 nm. La Figura 4.19c indica la curva que correlaciona el pH al cual está expuesto el fluorocromo y su fluorescencia bajo estas condiciones.

Tomando en cuenta la respuesta de la solución fluorescente a  $pH=10.2$  se escogió este valor para preparar la solución de las películas que fueron alineadas por inmersión, técnica descrita en el capítulo 3. La concentración de nanocristales empleada fue de 5 %wt y los papeles resultantes fueron evaluados por espectroscopia UV-Vis para obtener sus espectros de emisión, evidenciando un efecto batocrómico con pico máximo a 532 nm como se muestra en la Figura 4.20.

Una de estas películas fluorescentes con alineación forzada fue tomada como referencia para evaluar la conversión de fluorescencia cuando se excita con luz no polarizada (LNP) y polarizada linealmente con orientación vertical y horizontal (LPV y LPH respectivamente). Para poder establecer esta comparación se iluminó la muestra con cada estado de polarización sin mover la muestra, por lo que el área analizada coincide para todos los casos. Las intensidades



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

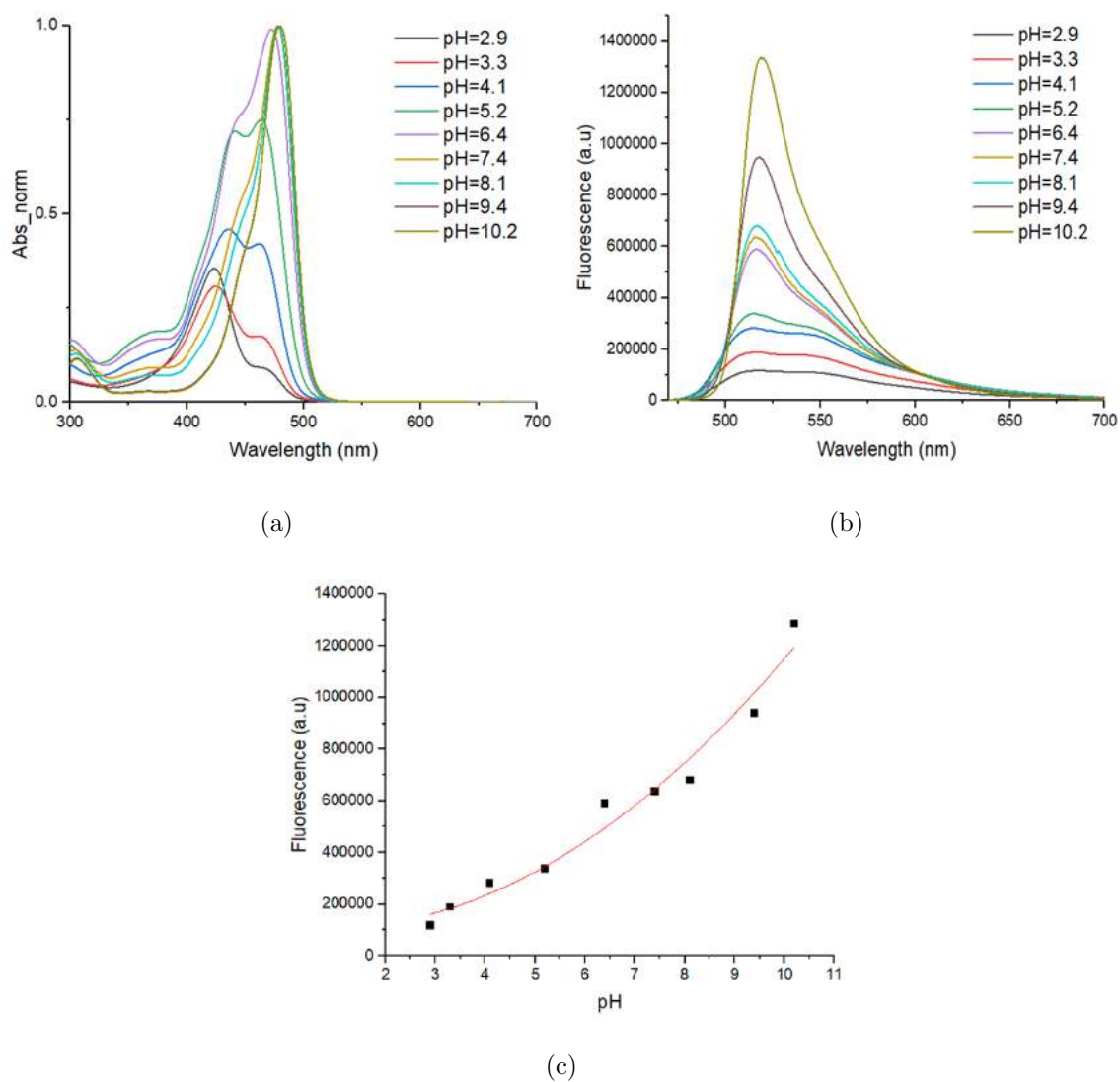


Figura 4.19: Espectros de absorbancia (a) y fluorescencia (b) de la sal de fluoresceína sódica en solución líquida y la curva de correlación entre la sal con la variación de pH (c).

de referencia se tomaron con el detector colocado justo en la posición donde se coloca la película, de este modo se tomó una señal del haz incidente no polarizado y otras dos para la luz polarizada vertical y horizontal respectivamente. Además, se evaluó el comportamiento de la fluorescencia bajo las mismas condiciones de luz incidente para películas teñidas y

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

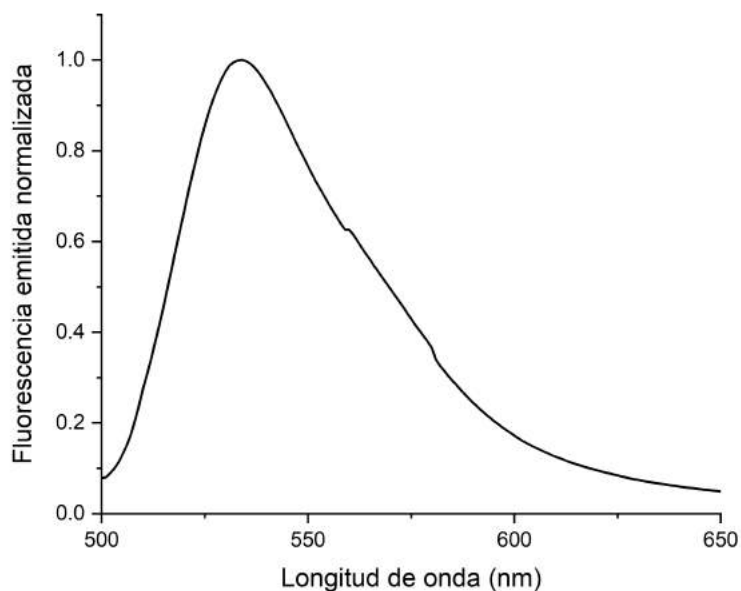


Figura 4.20: Espectro de fluorescencia de la sal de fluoresceína sódica dispersa en una matriz sólida de nanocristales de celulosa.

fabricadas bajo la técnica de autoensamble. La tabla 4.4 exhibe las intensidades relativas de fluorescencia con los tres tipos de orientación de la luz incidente. Puede observarse por las razones obtenidas para ambas técnicas de fabricación que la intensidad de fluorescencia es mayor cuando se excita la muestra con luz linealmente polarizada horizontal. Se debe especificar que la muestra es colocada de forma tal que la orientación del eje director de los cristales están dispuestos de forma paralela al eje principal de la luz polarizada horizontal. Basados en las intensidades de fluorescencia medidas con los tres tipos de excitación, se procedió a calcular las razones entre la intensidad obtenida con luz polarizada horizontal respecto a las medidas con luz no polarizada y polarizada vertical. En el caso del método EISA, existe un 12.5 % de mayor intensidad cuando la muestra es excitada con LPH que con LNP; mien-

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

---

tras que para la técnica de inmersión se obtiene el mejor resultado. Se puede apreciar un incremento del 46.8 % de intensidad de fluorescencia en películas con excitación de LPH en comparación con LNP. Este fenómeno puede deberse a que las moléculas de fluorocromo se adhieren a los cristales que adquieren una orientación paralela a la tensión superficial que se ejerce durante el proceso de fabricación de las películas.

	$I_{rel}$ DC	$I_{rel}$ EISA	Razón EISA		Razón DC	
LNP	0.047	0.112	LPH-LNP	LPH-LPV	LPH-LNP	LPH-LPV
LPH	0.069	0.126	1.125	1.04	1.468	1.1
LPV	0.062	0.121				

Cuadro 4.4: Intensidades relativas de fluorescencia para películas fabricadas por inmersión (DC) y por autoensamble (EISA). LNP: luz no polarizada, LPH: luz polarizada horizontalmente, LPV: luz polarizada verticalmente

# Capítulo 5

## CONCLUSIONES Y TRABAJO

## FUTURO

### 5.1. Conclusiones

En este trabajo se emplearon dos técnicas distintas para la fabricación de papel basado en nanocristales de celulosa bajo condiciones variables de potencial hidrógeno del soluto y concentración de CNC, como posible plataforma de sensado. Se implementó una metodología para la caracterización polarimétrica de las películas obtenidas mediante las dos técnicas empleadas, lo que permitió analizar la estructura conformada en este tipo de materiales. Las películas obtenidas bajo los métodos de autoensamble inducido por evaporación e inmersión fueron caracterizadas por polarimetría matricial de Mueller a escala microscópica con el fin

## 5. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

---

de estudiar detalladamente el efecto pH-solución sobre las propiedades ópticas anisótropas del material. En todos los casos la transparencia de las muestras es notablemente buena en el espectro visible, con despolarización y diatenuación despreciables. La técnica EISA evidenció que durante el proceso de secado los cristales experimentan interacciones superficiales, de modo que permiten la formación de estructuras nemáticas y quirales en función de la concentración de CNC y el pH, observando que los valores de pH próximos al neutro favorecen este último tipo de ensamblajes. La interacción polar entre los cristales de celulosa a pH neutro aumenta debido a que al existir menor cantidad de protones, los terminales polares de los cristales logran formar una estructura quiral más fuerte [25]. Los valores medios de birrefringencia lineal y circular de las películas se obtuvieron utilizando la descomposición polar de las matrices de Mueller a dos longitudes de onda diferentes. Las muestras obtenidas por inmersión experimentan una distribución mucho más homogénea de la birrefringencia lineal que las obtenidas por EISA, lo que se corroboró mediante iMMPM. El paso quiral de las muestras, que presentan retardancia circular, se ve afectado en gran medida por las condiciones de alta humedad a las que fueron sometidas; lo que lo hace poco viable para desarrollar un sensor donde la señal de interés depende de la homogeneidad de la estructura. Se dispersó un fluoróforo sensible a pH en películas con alineación forzada y con autoensamble, y se evaluó el efecto de las estructuras de los CNC sobre la fluorescencia emitida. Las películas de CNC teñidas con fluoresceína sódica mostraron mejor respuesta ante la excitación con luz linealmente polarizada con orientación del eje principal de forma paralela a la orientación de los cristales mediante el proceso de inmersión. Se obtuvo una mejor intensidad de fluorescencia en películas con alineación forzada que con las autoensambladas por evaporación.

## 5. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

---

Lo anterior nos permite concluir que la mejor opción para el desarrollo de nuestro sensor es el método de fabricación por alineación forzada. A pesar de que no se alcanzó a realizar pruebas de contacto de las películas fluorescentes sensibles a pH en el intervalo de interés, se pudo comprobar que existe una mejora de la emisión fluorescente con excitación linealmente polarizada en la orientación paralela al sentido de inmersión y extracción del sustrato. Realizando mejoras en la retención del fluoróforo sobre la plataforma, se puede proponer como una plataforma de sensado para el monitoreo del proceso de cicatrización de heridas.

### 5.2. Trabajo Futuro

Los sensores basados en nano celulosa han demostrado un buen desempeño dadas sus propiedades de biocompatibilidad, sostenibilidad, mecánicas y además en su uso como andamios en el proceso de cicatrización de heridas crónicas. En este trabajo se ha realizado la caracterización polarimétrica de películas de celulosa con la finalidad de evaluar su funcionalidad como posible sensor en medios con pH variable. Como trabajos futuros se propone:

- Desarrollar una metodología (recetas) para fabricar diversos fantasmas biológicos con propiedades ópticas ideales para comprobar la efectividad de las películas de nano celulosa como dispositivo de sensado.
- Evaluar el desempeño de la plataforma de sensado y determinar la respuesta del sensor en presencia de marcadores biológicos asociados a la cicatrización de una herida.

## 5. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

---

- Establecer una posible correlación entre las características de la fluorescencia polarizada emitida por fluoróforos específicos dispersos en una muestra y la concentración de hidrogenoides del entorno.
- Desarrollar una primera versión de apósito con la metodología propuesta a nivel laboratorio y evaluar su factibilidad para evaluar el proceso de cicatrización de heridas.

# Apéndice A

## A.1. Producciones científicas





# Optical anisotropy assessment in nanopaper sheets by imaging Mueller matrix polarimetry

Danay Hernández-López · Jaiver Chicangana-Cifuentes · Yanier Ojeda-Morales · Leticia Larios-López · Geminiano Martínez-Ponce

Received: 22 December 2022 / Accepted: 31 March 2023  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2023

**Abstract** Pristine nanopaper sheets have been produced by the drop-casting process using water-based cellulose nanocrystals solutions with different solute concentrations and hydrogen potential values of the solvent. In order to assess the optical properties associated to the microscopic structure of the resulting substrates, imaging Mueller matrix polarimetry was implemented. Even though the depolarizing features expected in this kind of media, optical anisotropic parameters were measured at microscopic level. It was found that spatial distribution of birefringence depends not only on the raw material nanoconformation, but also on the applied processing method. Nanopaper structural evaluation can help in understanding and optimizing optical response of sensing devices supported in these multifunctional materials.

**Keywords** Cellulose nanocrystal · Evaporation-induced self-assembly · pH · Mueller matrix · Optical anisotropy

## Introduction

Recently, paper sheets made of nanocellulose, also known as cellulose nanopaper, has become an attractive substrate to support a number of optical sensing devices (Morales-Narvaez et al. 2015). Among the features of this natural polymer, sustainability and biocompatibility become relevant when biosensors are developed (Subhedar et al. 2021). Raw nanocellulose is obtained through different chemical and physical extraction processes and it can be categorized in different morphologies such as nanofibers (CNF), nanocrystals (CNC) and nanofibrillar networks (Teodoro et al. 2021); the latter is also known as bacterial nanocellulose (BNC) due to its production by microbial fermentation. Such morphologies afford unique chemical and physical features to solid films fabricated through a number of casting methods. Particularly, when CNC papers are obtained through the evaporation-induced self-assembly (EISA) method, due to its liquid crystalline characteristic, left-handed chiral nanostructures are raised (Revol et al. 1998; Hewson et al. 2017). Higher CNC concentration solutions, which results in thicker films, improve the structural organization and the well-known iridescent effect (Mu and Gray 2015). In this regard,

---

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s10570-023-05181-0>.

---

D. Hernández-López · J. Chicangana-Cifuentes · Y. Ojeda-Morales · G. Martínez-Ponce (✉)  
Departamento de Ciencia Básica y de Frontera, Centro de Investigaciones en Óptica, A. C., Loma del Bosque 115, Lomas del Campestre, 37150 León, Guanajuato, México  
e-mail: geminis@cio.mx

L. Larios-López  
Departamento de Materiales Avanzados, Centro de Investigación en Química Aplicada, Enrique Reyna H. 140, San José de los Cerritos, 25294 Saltillo, Coahuila, México

# Characterization of a nanocellulose-based sensing platform

Danay Hernández López,<sup>1</sup> and Geminiano Martínez Ponce,<sup>2,\*</sup>

<sup>1,2</sup> Lomas del Bosque 115, Colonia Lomas del Campestre, León, Guanajuato, México 37150.

\*danayhede@cio.mx

**Abstract:** Nanopaper sheets have been produced using cellulose nanocrystal water-based solutions and the evaporation-induced self-assembly method. Water-pH has been varied with the aim of evaluating final anisotropic optical properties, which have been measured through Mueller polarimetry. © 2022 The Author(s)

## 1. Introduction

Recently, paper sheet made of nanocellulose, also known as cellulose nanopaper, has become an attractive substrate to support a number of optical sensing devices. There is currently great interest in developing biosensors and biomaterials based on nanocellulose (NC), which is a biocompatible and physiologically inert material, allowing its application, for example, as a support for the immobilization of enzymes and proteins. Among other properties, NC materials have a crystalline structure resulting from their rod-shaped conformation with widths between 2 and 50 nm, as well as lengths between 100 and 200 nm. Cellulose nanocrystals tend to organize themselves into a chiral nematic (or cholesteric) liquid-crystalline phase which, in a dry film, gives rise to a photonic structure. Optical anisotropy in nanocellulose films has been evaluated by a number of optical techniques, for example, polarization microscopy, simple optical birefringence method, and Mueller matrix spectroellipsometry.[3]

## 2. Experimental section

### 2.1. Cellulose film preparation

The solution was prepared with CNC powder dissolved in tridistilled water with a concentration of 1-5wt% and magnetic stirring (IKA C-MAG HS4) at 1500 rpm for 3 hours at room temperature. After, it was stirred at a lower speed of 100 rpm for 1 hour. The samples were taken from the suspension and their pH values were adjusted to 2-10, respectively by the addition of sodium hydroxide and sulfuric acid. The added mass of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or NaOH was very low, which made it possible to adjust the pH without significantly changing the concentration of the solutions. The pH of the dispersions was monitored using the pH meter (pHep from HANNA Instruments) with a resolution of 0.1. After 24 hours of standing, 12mL of the solution was deposited in sterile 60mm diameter polystyrene Petri dishes. The films were fabricated by the EISA method. The solvent evaporation process is carried out at room temperature with an average humidity of 67.5% during 5 days. As it has been reported previously, nanopaper sheet transparency depended not only on thickness, but on the environment temperature and humidity conditions. The dried films were then isolated from the substrates and cut into rectangular portions, discarding the edges.

### 2.2. Imaging Mueller matrix polarimeter

Transmission iMPPM is based on dual rotating achromatic quarter-wave retardation plates with fixed linear polarizers, which are combined as described elsewhere to build two modules: a polarization state generator (PSG) and a polarization state analyzer (PSA), as shown in Fig. 1. [?] At the PSG input, a multiwavelength LED illumination source provides a collimated probe beam with narrow emission spectrum (full-width at half-maximum < 35 nm). Low coherence in probe illumination reduces speckle effects in imaging applications. A monochrome CMOS camera, 1280 × 1024 resolution and pixel size of 5.3 μm, is placed at the PSA output. Microscopic image magnification results from combining a 60× objective and a 16× eyepiece lens. Under this condition, the field of view covered an area of 85.3×65.6 μm<sup>2</sup>. Setting of the fast-axis orientation angle for each retardation plate and the digital acquisition of output intensity spatial distribution are recorded synchronously through a control program implemented in a personal computer. Frame rate acquisition and framebox size were optimized to reduce uncertainty in numerical calculation of Mueller matrix coefficients but also to keep low the computational cost.

## A.2. Polarimetría microscópica de imagen de Mueller

En este apartado se adjuntan todas las imágenes promedio obtenidas a partir de la descomposición polar de la matriz de Mueller completa para las muestras 3C3, 3C7, 3C9, 4C3, 4C7, 4C9, 5C3, 5C7, y 5C9.

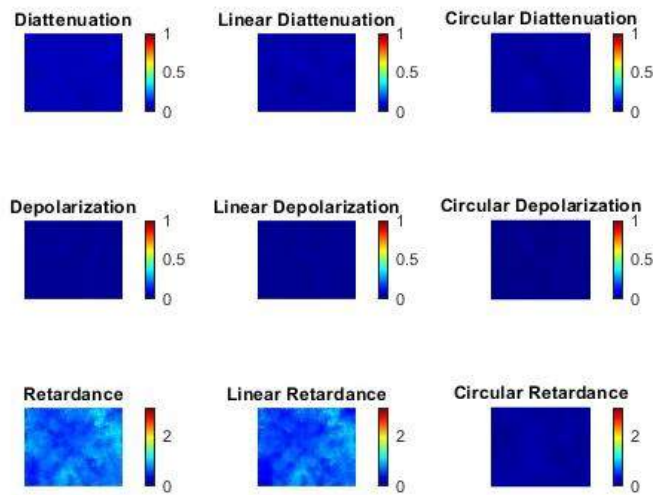


Figura A.1: Descomposición polar para la muestra 3C3

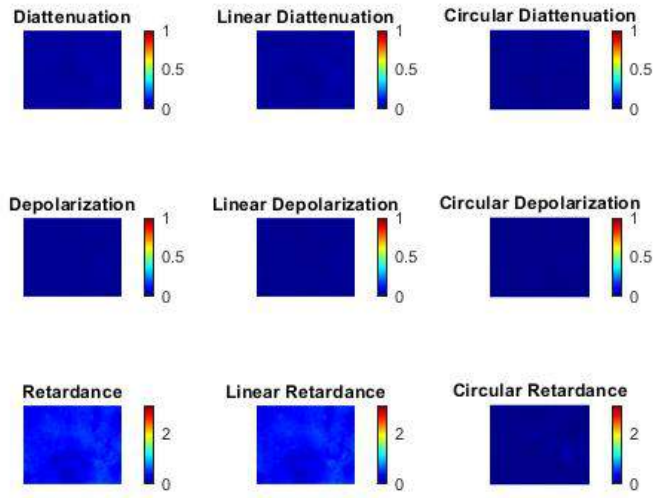


Figura A.2: Descomposición polar para la muestra 3C7

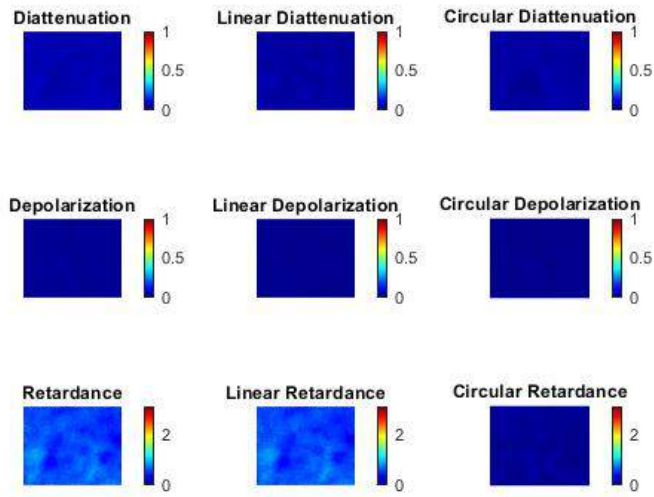


Figura A.3: Descomposición polar para la muestra 3C9

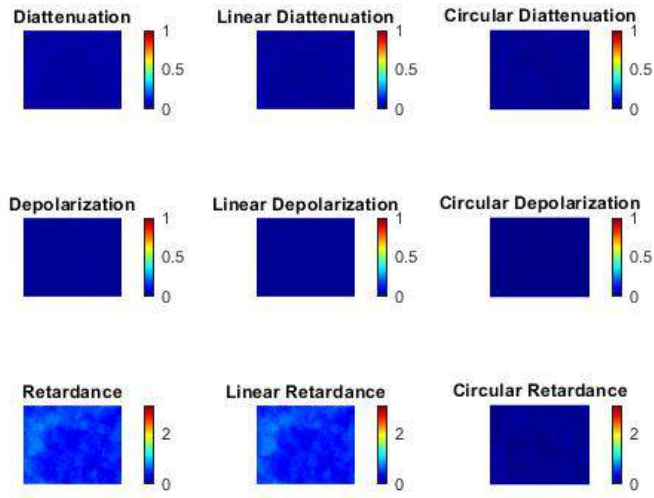


Figura A.4: Descomposición polar para la muestra 4C3

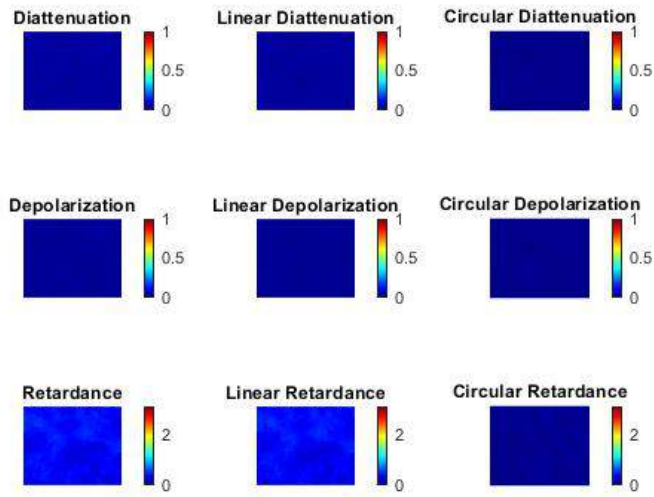


Figura A.5: Descomposición polar para la muestra 4C7

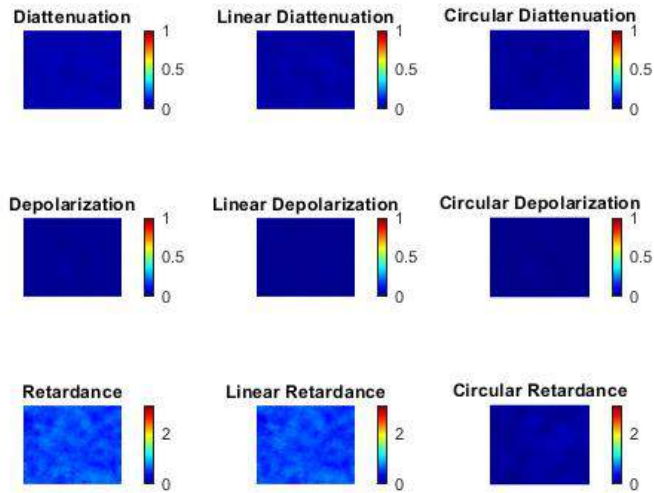


Figura A.6: Descomposición polar para la muestra 4C9

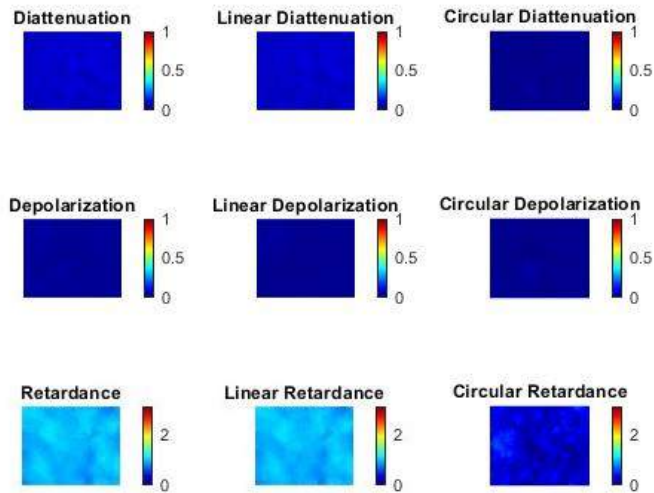


Figura A.7: Descomposición polar para la muestra 5C3

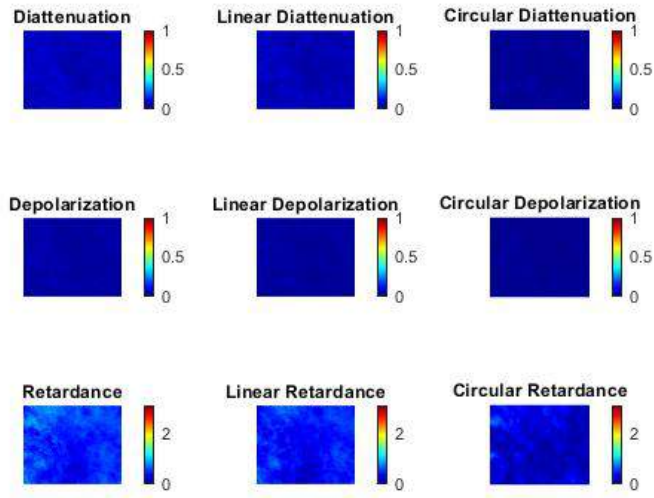


Figura A.8: Descomposición polar para la muestra 5C7

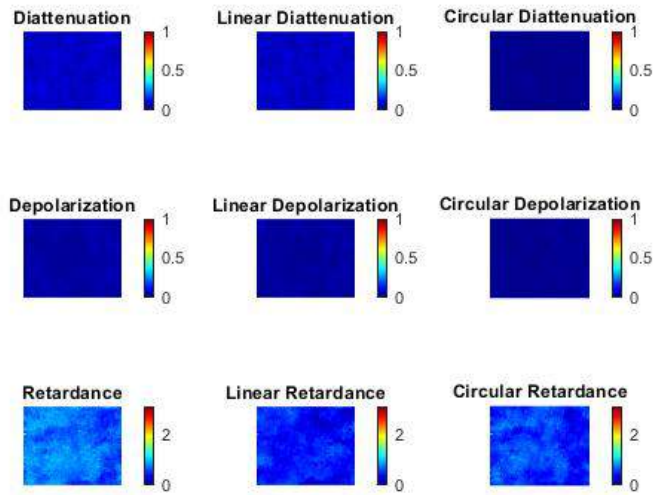


Figura A.9: Descomposición polar para la muestra 5C9

# Bibliografía

- [1] Danay Hernández-López, Jaiver Chicangana-Cifuentes, Yanier Ojeda-Morales, Leticia Larios-López, and Geminiano Martínez-Ponce. Optical anisotropy assessment in nanopaper sheets by imaging mueller matrix polarimetry. *Cellulose*, pages 1–13, 2023.
- [2] Pengfei Lv, Xiaomin Lu, Ling Wang, and Wei Feng. Nanocellulose-based functional materials: from chiral photonics to soft actuator and energy storage. *Advanced Functional Materials*, 31(45):2104991, 2021.
- [3] Jun Araki, Masahisa Wada, Shigenori Kuga, and Takeshi Okano. Birefringent glassy phase of a cellulose microcrystal suspension. *Langmuir*, 16(6):2413–2415, 2000.
- [4] Thomas G Parton, Richard M Parker, Gea T van de Kerkhof, Aurimas Narkevicius, Johannes S Haataja, Bruno Frka-Petesic, and Silvia Vignolini. Chiral self-assembly of cellulose nanocrystals is driven by crystallite bundles. *Nature Communications*, 13(1):2657, 2022.
- [5] Ingvild Kvien and Kristiina Oksman. Orientation of cellulose nanowhiskers in polyvinyl alcohol. *Applied Physics A*, 87:641–643, 2007.



- [6] Fumiko Kimura, Tsunehisa Kimura, Moritaka Tamura, Asako Hirai, Masaya Ikuno, and Fumitaka Horii. Magnetic alignment of the chiral nematic phase of a cellulose microfibril suspension. *Langmuir*, 21(5):2034–2037, 2005.
- [7] Prodyut Dhar, Amit Kumar, and Vimal Katiyar. Magnetic cellulose nanocrystal based anisotropic polylactic acid nanocomposite films: influence on electrical, magnetic, thermal, and mechanical properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(28):18393–18409, 2016.
- [8] Damien Bordel, Jean-Luc Putaux, and Laurent Heux. Orientation of native cellulose in an electric field. *Langmuir*, 22(11):4899–4901, 2006.
- [9] Youssef Habibi, Thomas Heim, and Roger Douillard. Ac electric field-assisted assembly and alignment of cellulose nanocrystals. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 46(14):1430–1436, 2008.
- [10] Levente Csoka, Ingrid C Hoeger, Perry Peralta, Ilona Peszlen, and Orlando J Rojas. Dielectrophoresis of cellulose nanocrystals and alignment in ultrathin films by electric field-assisted shear assembly. *Journal of colloid and interface science*, 363(1):206–212, 2011.
- [11] Arturo Mendoza-Galván, Tania Tejeda-Galán, Amos B Domínguez-Gómez, Reina Araceli Mauricio-Sánchez, Kenneth Järrendahl, and Hans Arwin. Linear birefringent films of cellulose nanocrystals produced by dip-coating. *Nanomaterials*, 9(1):45, 2018.

- [12] Yuan Xu, Aleks Atrens, and Jason R Stokes. A review of nanocrystalline cellulose suspensions: Rheology, liquid crystal ordering and colloidal phase behaviour. *Advances in colloid and interface science*, 275:102076, 2020.
- [13] William J Orts, Louis Godbout, Robert H Marchessault, and J-F Revol. Enhanced ordering of liquid crystalline suspensions of cellulose microfibrils: a small angle neutron scattering study. *Macromolecules*, 31(17):5717–5725, 1998.
- [14] Alexander D Haywood and Virginia A Davis. Effects of liquid crystalline and shear alignment on the optical properties of cellulose nanocrystal films. *Cellulose*, 24:705–716, 2017.
- [15] Olga Rubí Juárez-Rivera, Reina Araceli Mauricio-Sánchez, Kenneth Järrendahl, Hans Arwin, and Arturo Mendoza-Galván. Quantification of optical chirality in cellulose nanocrystal films prepared by shear-coating. *Applied Sciences*, 11(13):6191, 2021.
- [16] Martin A Hubbe, Orlando J Rojas, Lucian A Lucia, and Mohini Sain. Cellulosic nanocomposites: a review. *BioResources*, 3(3):929–980, 2008.
- [17] Kelcilene BR Teodoro, Rafaela C Sanfelice, Fernanda L Migliorini, Adriana Pavinatto, Murilo HM Facure, and Daniel S Correa. A review on the role and performance of cellulose nanomaterials in sensors. *ACS sensors*, 6(7):2473–2496, 2021.
- [18] D Hewson, P Vukusic, and SJ Eichhorn. Reflection of circularly polarized light and the effect of particle distribution on circular dichroism in evaporation induced self-assembled cellulose nanocrystal thin films. *AIP Advances*, 7(6):065308, 2017.

- [19] J-F Revol, Louis Godbout, and Derek G Gray. Solid self-assembled films of cellulose with chiral nematic order and optically variable properties. *Journal of pulp and paper science*, 24(5):146–149, 1998.
- [20] Xiaoyue Mu and Derek G Gray. Droplets of cellulose nanocrystal suspensions on drying give iridescent 3-d “coffee-stain” rings. *Cellulose*, 22:1103–1107, 2015.
- [21] Xue Min Dong, Tsunehisa Kimura, Jean-Francois Revol, and Derek G. Gray. Effects of ionic strength on the isotropic-chiral nematic phase transition of suspensions of cellulose crystallites. *Langmuir*, 12(8):2076–2082, 1996.
- [22] Mei-Chun Li, Qinglin Wu, Robert J Moon, Martin A Hubbe, and Michael J Bortner. Rheological aspects of cellulose nanomaterials: Governing factors and emerging applications. *Adv. Mater.*, 33(21):2006052, 2021.
- [23] Yuan Xu, Aleks Atrens, and Jason R Stokes. A review of nanocrystalline cellulose suspensions: Rheology, liquid crystal ordering and colloidal phase behaviour. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 275:102076, 2020.
- [24] Richard M. Parker, Giulia Guidetti, Cyan A. Williams, Tianheng Zhao, Aurimas Narkevicius, Silvia Vignolini, and Bruno Frka-Petesic. The self-assembly of cellulose nanocrystals: Hierarchical design of visual appearance. *Adv. Mater.*, 30(19):1704477, 2018.
- [25] Chenxi Li, Julian Evans, Nan Wang, Tingbiao Guo, and Sailing He. pH dependence of the chirality of nematic cellulose nanocrystals. *Sci. Rep.*, 9(1):2045–2322, 2019.

- [26] Elena-Emilia Tudoroiu, Cristina-Elena Dinu-Pirvu, Madalina Georgiana Albu Kaya, Lacramioara Popa, Valentina Anut, Razvan Mihai Prisada, and Mihaela Violeta Ghica. An overview of cellulose derivatives-based dressings for wound-healing management. *Pharmaceuticals*, 14:1215, 2021.
- [27] W Grellner, T Georg, and J Wilske. Quantitative analysis of proinflammatory cytokines (il-1 $\beta$ , il-6, tnf- $\alpha$ ) in human skin wounds. *Forensic science international*, 113(1-3):251–264, 2000.
- [28] W Grellner, S Vieler, and B Madea. Transforming growth factors (tgf- $\alpha$  and tgf- $\beta$ 1) in the determination of vitality and wound age: immunohistochemical study on human skin wounds. *Forensic science international*, 153(2-3):174–180, 2005.
- [29] Lars Alexander Schneider, Andreas Korber, Stephan Grabbe, and Joachim Dissemond. Influence of pH on wound-healing: A new perspective for wound-therapy? *Arch. Dermatol. Res.*, 298(9):413–420, 2007.
- [30] Rahim Rahimi, Manuel Ochoa, Tejasvi Parupudi, Xin Zhao, Iman K Yazdi, Mehmet R Dokmeci, Ali Tamayol, Ali Khademhosseini, and Babak Ziaie. A low-cost flexible pH sensor array for wound assessment. *Sens. Actuators B: Chem.*, 229:609–617, 2016.
- [31] Hans Arwin, Stefan Schoeche, James Hilfiker, Mattias Hartveit, Kenneth Jarrendahl, Olga Rubi Juarez-Rivera, Arturo Mendoza-Galvan, and Roger Magnusson. Optical chirality determined from Mueller matrices. *Appl. Sci.*, 11:6742, 2021.

- [32] Alexander D. Haywood and Virginia A. Davis. Effects of liquid crystalline and shear alignment on the optical properties of cellulose nanocrystal films. *Cellulose*, 24:705–716, 2017.
- [33] Reaz A. Chowdhury, Shane X. Peng, and Jeffrey Youngblood. Improved order parameter (alignment) determination in cellulose nanocrystal (cnc) films by a simple optical birefringence method. *Cellulose*, 24:1957–1970, 2017.
- [34] Shih-Yau Lu and Russell A. Chipman. Interpretation of Mueller matrices based on polar decomposition. *J. Opt. Soc. Am. A*, 13(5):1106–1113, 1996.
- [35] Arturo Mendoza-Galvan, Tania Tejeda-Galan, Amos B. Dominguez-Gomez, Reina Araceli Mauricio-Sanchez, Kenneth Jarrendahl, and Hans Arwin. Linear birefringent films of cellulose nanocrystals produced by dip-coating. *Nanomaterials*, 9:45, 2019.
- [36] Florent Le Guern, Vanessa Mussard, Anne Gaucher, Martin Rottman, and Damien Prim. Fluorescein derivatives as fluorescent probes for ph monitoring along recent biological applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23):9217, 2020.
- [37] Alexander P Demchenko, Guy Duportail, Sule Oncul, Andrey S Klymchenko, and Yves Mély. Introduction to fluorescence probing of biological membranes. *Methods in membrane lipids*, pages 19–43, 2015.
- [38] R Klopp, W Niemer, M Fraenkel, and A Von der Weth. Effect of four treatment variants on the functional and cosmetic state of mature scars. *Journal of wound care*, 9(7):319–324, 2000.

- [39] Jin Huang, Alain Dufresne, and Ning Lin. *Nanocellulose: From fundamentals to advanced materials*. John Wiley & Sons, 2019.
- [40] M Nasir, R Hashim, O Sulaiman, and M Asim. Nanocellulose preparation methods and applications in cellulose-reinforced nanofibre composites. *WP Woodhead Publishing*. doi, 10, 2017.
- [41] Aref Abbasi Moud, Milad Kamkar, Amir Sanati-Nezhad, and Seyed Hossein Hejazi. Suspensions and hydrogels of cellulose nanocrystals (cncs): characterization using microscopy and rheology. *Cellulose*, 29(7):3621–3653, 2022.
- [42] Akira Isogai. Wood nanocelluloses: fundamentals and applications as new bio-based nanomaterials. *Journal of wood science*, 59:449–459, 2013.
- [43] Jun Araki, Masahisa Wada, Shigenori Kuga, and Takeshi Okano. Influence of surface charge on viscosity behavior of cellulose microcrystal suspension. *Journal of wood science*, 45:258–261, 1999.
- [44] Masahisa Wada, Junji Sugiyama, and Takeshi Okano. Native celluloses on the basis of two crystalline phase ( $i\alpha/i\beta$ ) system. *Journal of Applied Polymer Science*, 49(8):1491–1496, 1993.
- [45] HPS Abdul Khalil, AH Bhat, and AF Ireana Yusra. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate polymers*, 87(2):963–979, 2012.

- [46] Shin-Ping Lin, Iris Loira Calvar, Jeffrey M Catchmark, Je-Ruei Liu, Ali Demirci, and Kuan-Chen Cheng. Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose*, 20(5):2191–2219, 2013.
- [47] Luz Dary Carreño Pineda, Luis Alfonso Caicedo Mesa, and Carlos Arturo Martínez Riascos. Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. *Ingeniería y ciencia*, 8(16):307–335, 2012.
- [48] Ning Lin and Alain Dufresne. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *European Polymer Journal*, 59:302–325, 2014.
- [49] My Ahmed Said Azizi Samir, Fannie Alloin, and Alain Dufresne. Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules*, 6(2):612–626, 2005.
- [50] Ping Lu and You-Lo Hsieh. Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw. *Carbohydrate Polymers*, 87(1):564–573, 2012.
- [51] Aref Abbasi Moud and Aliyeh Abbasi Moud. Cellulose nanocrystals (cnc) liquid crystalline state in suspension: An overview. *Applied Biosciences*, 1(3):244–278, 2022.
- [52] Pierre-Gilles De Gennes and Jacques Prost. *The physics of liquid crystals*. Number 83. Oxford university press, 1993.
- [53] George W Gray, Volkmar Vill, Hans W Spiess, Dietrich Demus, and John W Goodby. *Physical properties of liquid crystals*. John Wiley & Sons, 2009.

- [54] Pochi Yeh and Claire Gu. *Optics of liquid crystal displays*, volume 67. John Wiley & Sons, 2009.
- [55] Toralf Scharf. *Polarized light in liquid crystals and polymers*. John Wiley & Sons, 2007.
- [56] Matthieu David and Damien Connétable. Diffusion of interstitials in metallic systems, illustration of a complex study case: aluminum. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 29(45):455703, 2017.
- [57] Thomas Folda, Heinz Hoffmann, Henri Chanzy, and Paul Smith. Liquid crystalline suspensions of poly (tetrafluoroethylene) 'whiskers'. *Nature*, 333(6168):55–56, 1988.
- [58] J-F Revol, H Bradford, J Giasson, RH Marchessault, and DG Gray. Helicoidal self-ordering of cellulose microfibrils in aqueous suspension. *International journal of biological macromolecules*, 14(3):170–172, 1992.
- [59] Adolfo Lopez Noriega. *Vidrios mesoporosos bioactivos como biomateriales de tercera generación*. PhD thesis, Universidad Complutense de Madrid, 2010.
- [60] Ragesh Prathapan, Rico F Tabor, Gil Garnier, and Jinguang Hu. Recent progress in cellulose nanocrystal alignment and its applications. *ACS Applied Bio Materials*, 3(4):1828–1844, 2020.
- [61] Amira Barhoumi Meddeb, Inseok Chae, Aijie Han, Seong H Kim, and Zoubeida Ounaies. Magnetic field effects on cellulose nanocrystal ordering in a non-aqueous solvent. *Cellulose*, 27:7901–7910, 2020.



- [62] D Li, Zl ad marwan al-haik, m. tehrani, f. murray, r. tannenbaum and h. garmestani. *Polym. Bull*, 65:635–642, 2010.
- [63] Amira Barhoumi Meddeb, Inseok Chae, Aijie Han, Seong H Kim, and Zoubeida Ounaies. Magnetic field effects on cellulose nanocrystal ordering in a non-aqueous solvent. *Cellulose*, 27:7901–7910, 2020.
- [64] Tanittha Pullawan, Arthur N Wilkinson, and Stephen J Eichhorn. Influence of magnetic field alignment of cellulose whiskers on the mechanics of all-cellulose nanocomposites. *Biomacromolecules*, 13(8):2528–2536, 2012.
- [65] Jean-François Revol, Louis Godbout, Xue-Min Dong, Derek G Gray, Henri Chanzy, and Georg Maret. Chiral nematic suspensions of cellulose crystallites; phase separation and magnetic field orientation. *Liquid Crystals*, 16(1):127–134, 1994.
- [66] Damien Bordel, Jean-Luc Putaux, and Laurent Heux. Orientation of native cellulose in an electric field. *Langmuir*, 22(11):4899–4901, 2006.
- [67] Bruno Jean, Frédéric Dubreuil, Laurent Heux, and Fabrice Cousin. Structural details of cellulose nanocrystals/polyelectrolytes multilayers probed by neutron reflectivity and afm. *Langmuir*, 24(7):3452–3458, 2008.
- [68] Youssef Habibi, Ingrid Hoeger, Stephen S Kelley, and Orlando J Rojas. Development of langmuir- schaeffer cellulose nanocrystal monolayers and their interfacial behaviors. *Langmuir*, 26(2):990–1001, 2010.

- [69] Katherine R Jinkins, Jingyu Wang, Jonathan H Dwyer, Xudong Wang, and Michael S Arnold. Confined shear alignment of ultrathin films of cellulose nanocrystals. *ACS Applied Bio Materials*, 4(11):7961–7966, 2021.
- [70] Russell A Chipman, Wai-Sze Tiffany Lam, and Garam Young. *Polarized light and optical systems*. CRC press, 2018.
- [71] Thomas W Cronin, Nadav Shashar, Roy L Caldwell, Justin Marshall, Alexander G Cheroske, and Tsyr-Huei Chiou. Polarization vision and its role in biological signaling. *Integrative and Comparative Biology*, 43(4):549–558, 2003.
- [72] Sanaz Alali and Alex Vitkin. Polarized light imaging in biomedicine: emerging Mueller matrix methodologies for bulk tissue assessment. *Journal of biomedical optics*, 20(6):061104–061104, 2015.
- [73] David S Kliger and James W Lewis. *Polarized light in optics and spectroscopy*. Elsevier, 2012.
- [74] IT Moneva. Polarized light scattering from polymer textures. *Oriented Polymer Materials*, pages 241–264, 1996.
- [75] Lori S Goldner, Scott N Goldie, Michael J Fasolka, Francoise Renaldo, Jeeseong Hwang, and Jack F Douglas. Near-field polarimetric characterization of polymer crystallites. *Applied physics letters*, 85(8):1338–1340, 2004.

- [76] Sergio Calixto, Geminiano Martinez-Ponce, Guillermo Garnica, and Susana Figueroa-Gerstenmaier. A wavefront division polarimeter for the measurements of solute concentrations in solutions. *Sensors*, 17(12):2844, 2017.
- [77] RMA Azzam. Division-of-amplitude photopolarimeter (doap) for the simultaneous measurement of all four stokes parameters of light. *Optica Acta: International Journal of Optics*, 29(5):685–689, 1982.
- [78] Bruno Boulbry, Jessica C Ramella-Roman, and Thomas A Germer. Improved method for calibrating a stokes polarimeter. *Applied optics*, 46(35):8533–8541, 2007.
- [79] Juan Marcos Sanz Casado et al. *Polarimetría de sistemas difusores con microestructuras: efectos de difusión múltiple*. Universidad de Cantabria, 2011.
- [80] David Pereda Cubián, José Luis Arce Diego, et al. Aplicación de la polarimetría óptica a la caracterización de tejidos biológicos. 2004.
- [81] Tuan Vo-Dinh. Handbook on biomedical photonics, 2003.
- [82] Paula K Smith and Russell A Chipman. Characterizing multilayer, low diattenuation mirrors with a mueller matrix imaging polarimeter. In *Optical Interference Coatings*, page ThB4. Optical Society of America, 2007.
- [83] Gang Yao and Lihong V Wang. Monte carlo simulation of an optical coherence tomography signal in homogeneous turbid media. *Physics in Medicine & Biology*, 44(9):2307, 1999.

- [84] Beth Schaefer, Edward Collett, Robert Smyth, Daniel Barrett, and Beth Fraher. Measuring the stokes polarization parameters. *American Journal of Physics*, 75(2):163–168, 2007.
- [85] Edward Collett. Measurement of the four stokes polarization parameters with a single circular polarizer. *Optics Communications*, 52(2):77–80, 1984.
- [86] R.M.A. Azzam. Division-of-amplitude photopolarimeter (doap) for the simultaneous measurement of all four stokes parameters of light. *Optica Acta: International Journal of Optics*, 29(5):685–689, 1982.
- [87] David S Kliger and James W Lewis. *Polarized light in optics and spectroscopy*. Elsevier, 2012.
- [88] Brian J Thompson, Dennis Goldstein, and Dennis H Goldstein. Polarized light, revised and expanded. 2003.
- [89] Dennis H. Goldstein. *Polarized light*. CRC Press, 3rd edition, 2017.
- [90] William S Bickel and Wilbur M Bailey. Stokes vectors, mueller matrices, and polarized scattered light. *American Journal of Physics*, 53(5):468–478, 1985.
- [91] Dennis H Goldstein and Russell A Chipman. Error analysis of a mueller matrix polarimeter. *JOSA A*, 7(4):693–700, 1990.

- [92] Jiewei Yu, Xuemin Cheng, and Maolin Li. Error analysis and calibration improvement of the imaging section in a mueller matrix microscope. *Applied Sciences*, 10(13):4422, 2020.
- [93] Russell A Chipman, Wai Sze Tiffany Lam, and Garam Young. *Polarized light and optical systems*. CRC press, 2018.
- [94] Azael Mora-Núñez, Geminiano Martínez-Ponce, Guillermo García-Torales, and Anuar B. Beltrán-González. Texture analysis applied to polarimetric images of healthy in vivo murine skin. *Opt. Eng.*, 57(5):054106, 2018.
- [95] Shih-Yau Lu and Russell A. Chipman. Interpretation of Mueller matrices based on polar decomposition. *J. Opt. Soc. Am. A*, 13(5):1106–1113, 1996.
- [96] Joseph R Lakowicz and Joseph R Lakowicz. Introduction to fluorescence. *Principles of fluorescence spectroscopy*, pages 1–23, 1999.
- [97] David M Jameson and Justin A Ross. Fluorescence polarization/anisotropy in diagnostics and imaging. *Chemical reviews*, 110(5):2685–2708, 2010.
- [98] Joseph R Lakowicz. *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer, 2006.
- [99] Bradley S DeMay, Naoki Noda, Amy S Gladfelter, and Rudolf Oldenbourg. Rapid and quantitative imaging of excitation polarized fluorescence reveals ordered septin dynamics in live yeast. *Biophysical journal*, 101(4):985–994, 2011.

- [100] Long Chen, Xingye Chen, Xusan Yang, Chao He, Miaoyan Wang, Peng Xi, and Juntao Gao. Advances of super-resolution fluorescence polarization microscopy and its applications in life sciences. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18:2209–2216, 2020.
- [101] J. P. F. Lagerwall, C. Schütz, M. Salajkova, J. Noh, J. H. Park, G. Scalia, and L. Bergstrom. Cellulose nanocrystal-based materials: From liquid crystal self-assembly and glass formation to multifunctional thin films. *NPG Asia Mater.*, 6:e80, 2014.
- [102] Arturo Mendoza-Galván, Tania Tejeda-Galán, Amos B Domínguez-Gómez, Reina Araceli Mauricio-Sánchez, Kenneth Järrendahl, and Hans Arwin. Linear birefringent films of cellulose nanocrystals produced by dip-coating. *Nanomaterials*, 9(1):45, 2018.
- [103] Lin Gan, Siyuan Liu, Dong Li, and Jin Huang. Advanced materials based on self-assembly of cellulose nanocrystals. *Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Materials*, pages 277–313, 2019.
- [104] Chengliang Duan, Zheng Cheng, Bin Wang, Jinsong Zeng, Jun Xu, Jinpeng Li, Wenhua Gao, and Kefu Chen. Chiral photonic liquid crystal films derived from cellulose nanocrystals. *Small*, 17(30):2007306, 2021.
- [105] Pengfei Lv, Xiaomin Lu, Ling Wang, and Wei Feng. Nanocellulose-based functional materials: from chiral photonics to soft actuator and energy storage. *Advanced Functional Materials*, 31(45):2104991, 2021.

- [106] Jinhe Pan, Wadood Hamad, and Suzana K Straus. Parameters affecting the chiral nematic phase of nanocrystalline cellulose films. *Macromolecules*, 43(8):3851–3858, 2010.
- [107] Richard M. Parker, Giulia Guidetti, Cyan A. Williams, Tianheng Zhao, Aurimas Narkevicius, Silvia Vignolini, and Bruno Frka-Petesic. The self-assembly of cellulose nanocrystals: Hierarchical design of visual appearance. *Adv. Mater.*, 30(19):1704477, 2018.